

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1899

THÈSE

668

668

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Mardi 25 Juillet 1899, à 1 heure

PAR

PHILIPPE CHAPELLE

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE — LICENCIÉ ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

ANCIEN INTERNE EN PHARMACIE DES HÔPITAUX DE PARIS

PRÉPARATEUR DE CHIMIE ANALYTIQUE A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE

DE PHARMACIE DE PARIS — MÉDAILLE DE BRONZE DE L'ASSISTANCE PUBLIQUE

Né à Mailly (Saône-et-Loire), le 7 Décembre 1867

ÉTUDE

DU

POUVOIR RÉDUCTEUR DE QUELQUES SUCRES

NOUVELLE MÉTHODE

DE

DOSAGE PONDÉRAL

DE CES COMPOSÉS

Président : M. POUCHET, professeur.

{ RAYMOND, professeur.

Juges : MM. { ACHARD, } agrégés.

{ DESGREZ, }

PARIS

IMPRIMERIE REVELLAT

25, QUAI DES GRANDS-AUGUSTINS, 25

1899

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1899

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Mardi 25 Juillet 1899, à 1 heure

PAR

PHILIPPE CHAPELLE

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE — LICENCIÉ ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

ANCIEN INTERNE EN PHARMACIE DES HÔPITAUX DE PARIS

PRÉPARATEUR DE CHIMIE ANALYTIQUE A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE

DE PHARMACIE DE PARIS — MÉDAILLE DE BRONZE DE L'ASSISTANCE PUBLIQUE

Né à Mailly (Saône-et-Loire), le 7 Décembre 1867

ÉTUDE

DU

POUVOIR RÉDUCTEUR DE QUELQUES SUCRES

NOUVELLE MÉTHODE

DE

DOSAGE PONDÉRAL

DE CES COMPOSÉS

Président : M. **POUCHET**, professeur.
Juges : MM. { **RAYMOND**, professeur.
 { **ACHARD**,
 { **DESGREZ**, } agrégés.



PARIS

IMPRIMERIE REVELLAT

25, QUAI DES GRANDS-AUGUSTINS, 25

1899

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

	Doyen	M. BROUARDEL.
	Professeurs	MM.
Anatomie		FARABEUF.
Physiologie		CH. RICHET.
Physique médicale.		GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale.		GAUTIER.
Histoire naturelle médicale		BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales		BOUCHARD.
Pathologie médicale.		{ HUTINEL.
		{ DEBOVE.
Pathologie chirurgicale.		LANNELONGUE.
Anatomie pathologique.		CORNIL.
Histologie.		MATHIAS DUVAL.
Opérations et appareils		TERRIER.
Pharmacologie et Matière médicale.		POUCHET.
Thérapeutique.		LANDOUZY.
Hygiène.		PROUST.
Médecine légale.		BROUARDEL.
Histoire de la médecine et de la chirurgie		BRISSAUD.
Pathologie expérimentale et comparée		CHANTEMESSE.
		{ POTAIN.
Clinique médicale		{ JACCOUD.
		{ HAYEM.
		{ DIEULAFOY.
		{ GRANCHER.
Maladies des enfants.		JOFFROY.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale.		FOURNIER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques		RAYMOND.
Clinique des maladies du système nerveux		{ BERGER.
		{ DUPLAY.
Clinique chirurgicale.		{ LE DENTU.
		{ TILLAUX.
Clinique ophtalmologique		PANAS.
Clinique des maladies des voies urinaires		GUYON.
Clinique d'accouchement.		{ BUDIN.
		{ PINARD.

Agrévés en exercice

MM.	PIERRE DELBET	LEGUEU.	THIERY.
	DESGREZ.	LEJARS.	THIROLOIX.
ACHARD.	DUPRE.	LEPAGE.	THOINOT.
ALBARRAN.	FAURE.	MARFAN.	VAQUEZ.
ANDRE.	GAUCHER.	MAUCLAIRE.	VARNIER.
BONNAIRE.	GILLES DE LA	MENETRIER.	WALLICH.
BROCA (AUG.).	TOURETTE.	MERY.	WALTER.
BROCA (ANDRÉ).	HARTMANM.	ROGER.	WIDAL.
CHARRIN.	LANGLOIS.	SEBILEAU.	WURTZ.
CHASSEVANT.	LAUNOIS.	TEISSIER.	

Chef des Travaux anatomiques : M. RIEFFEL.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

INTRODUCTION

La détermination analytique des sucres que l'expérimentation clinique peut fournir à nos recherches est souvent entourée de grandes difficultés.

Ces composés, en effet, sont difficiles à isoler les uns des autres, soit en nature, soit sous forme de combinaisons bien définies, et ils ont peu de caractères propres.

Deux propriétés qu'ils possèdent à un degré plus ou moins accentué sont surtout utilisées pour leur identification et leur dosage : c'est le pouvoir rotatoire et le pouvoir réducteur (le saccharose (1) qui fait exception à ce dernier point de vue, est facilement transformé en un produit réducteur).

De nouveaux faits d'une très grande importance ont pourtant été apportés depuis quelques années.

L'isolement des levûres a permis d'en étudier un certain nombre qui ont des affinités bien nettes pour quelques uns de ces composés et qui, par une fermentations élective, laissent un résidu moins complexe.

La découverte si intéressante des hydrazones et des osazones par E. Fischer et la détermination de leurs

(1) Le genre des noms que l'on donne aux sucres n'est pas encore fixé définitivement ; nous adoptons dans le cours de cette étude le genre masculin.

principales propriétés (forme cristalline, point de fusion, solubilité, pouvoir rotatoire) a permis dans bien des cas de préciser la nature de tel ou tel sucre et souvent de rectifier une opinion erronée.

Les hydrazones se préparent à froid et chaque sucre réducteur possède la sienne propre, mais elles sont assez solubles pour qu'il faille opérer en solution concentrée.

Les osazones, au contraire, sont fort peu solubles, même à chaud (lactosazone et maltosazone exceptées), et permettent de déceler sûrement des quantités infimes de sucre.

La lactosazone et la maltosazone assez solubles à chaud se précipitent surtout pendant le refroidissement; elles constituent un bon moyen de caractériser l'un ou l'autre de ces sucres à côté des hexoses.

Les osazones de ces derniers (glucosazone, galactosazone, etc.) précipitent à chaud: malheureusement pour trois d'entre eux (glucose, lévulose, mannose) et de plus pour le saccharose on obtient le même produit la gluosazone qui fond à 204-205°. La galactosazone fond à une température un peu moins élevée, 193° (Fischer).

La question pour avoir fait un pas considérable est pourtant encore loin d'être résolue, et la détermination précise des propriétés optiques ou réductrices des solutions contenant ces composés n'en reste pas moins d'une très grande importance.

Comme nous le montrerons plus loin, le pouvoir réducteur surtout pourra nous donner des renseigne-

ments précieux. Mais pour en obtenir tout ce que nous sommes en droit de lui demander, il est nécessaire de nous entourer d'un certain nombre de précautions.

Depuis quelques années les méthodes par réduction ont été portées au plus haut degré de précision. Les travaux à ce sujet ont été faits principalement en Allemagne où Soxhlet, Märcker, Allihn, Tollens, etc., en ont donné la technique rigoureuse et dressé des tables à leur usage. Nous avons cru qu'il n'était point inutile de donner quelques détails sur les expériences si précises de ces maîtres de l'analyse.

Ces méthodes de dosage par réduction se divisent naturellement en deux groupes : méthodes *volumétriques* et méthodes *pondérales*.

La méthode pondérale de dosage des sucres par le cuivre n'est point couramment appliquée en France ; elle nécessite en effet une installation compliquée ; elle est surtout avantageuse lorsqu'on a un certain nombre de déterminations à faire.

Avec les simplifications que nous lui apportons elle devient, sans rien perdre de son exactitude, d'une grande commodité et d'une grande rapidité.

Dans le cours de nos recherches, deux auteurs nous ont été d'un grand secours :

1° Soxhlet (1) dont le beau travail qui date de vingt ans est toujours classique ;

2° Tollens et Bourgeois (2) dont l'important ouvrage

(1) Das Verhalten der Zuckerarten etc. (*Journal für pr. Chemie*) 2^e série, t. XXI p. 217.

(2) Hydrates de carbone, Paris 1896.

contient, à côté de faits innombrables, un index bibliographique d'une grande richesse qui nous a grandement aidé à remonter aux sources chaque fois que cela nous a été nécessaire. Nous lui avons fait de nombreux emprunts.

Pour des raisons qui seront exposées plus loin, nous serons amené à mesurer de très petits volumes dont la détermination demande quelques soins. Nous donnons à ce sujet quelques considérations pratiques sur l'emploi des instruments jaugés et gradués et sur celui de la balance qui sert à les vérifier, considérations qui ne sauraient s'adresser à des chimistes, mais qui pourront ne pas être inutiles pour des personnes peu familiarisées avec l'usage de ces instruments.

Nous donnons également quelques propriétés analytiques des principaux sucres susceptibles de se présenter à nos investigations.

Avant d'aborder notre sujet, il nous reste à exprimer nos remerciements à tous les maîtres dont nous avons eu l'honneur et la bonne fortune de fréquenter le service, pour la bienveillance qu'ils nous ont témoignée, et pour l'instruction et les bons conseils qu'ils nous ont donnés.

Et d'abord M. le D^r Brault, dont l'enseignement clair, précis, débarrassé de tout appareil doctrinal est en même temps d'ordre si élevé. Nous garderons toujours l'agréable souvenir des deux années que nous avons passées dans son service.

Nous n'avons garde d'oublier M. le D^r Gérard-Marchant qui aime à considérer ses malades et ses

élèves comme une grande famille dont il sait si bien acquérir l'affection et justifier la confiance.

Par la sévère asepsie qui préside à toutes ses opérations il nous a habitué à la préparation délicate des produits utiles à la chirurgie. Qu'il veuille bien nous laisser lui témoigner notre reconnaissance pour toutes les marques de sympathie qu'il nous a données.

M. le Dr Achard dont l'érudition et la sagacité scientifique n'ont d'égales que sa grande bonté, nous a accueilli dans son service avec une bienveillance dont nous lui sommes grandement obligé. Qu'il nous permette en outre de le remercier respectueusement de nous avoir montré l'intérêt qui s'attache à la question que nous étudions.

Que M. le Dr Bonnaire qui nous a initié à la pratique des accouchements et qui nous a donné tant de marques de bienveillance, veuille bien accepter l'expression de toute notre reconnaissance.

Nous adressons également l'hommage de notre vive gratitude à tous nos maîtres dans les hôpitaux : MM. les Drs Nélaton, Ménétrier, Champetier de Ribes, Barié, Duflocq, Demoulin.

Nous remercions de son excellent enseignement M. le Dr Macaigne qui nous a appris la bactériologie.

Nous prions tous nos maîtres de l'Ecole de Pharmacie de vouloir bien agréer l'hommage de notre respectueux dévouement.

Que M. le Pr Riche, notamment, qui nous a donné tant de marques de bienveillante sollicitude, nous

permette de lui en témoigner respectueusement notre profonde gratitude.

Nous avons spécialement contracté les plus grandes obligations envers M. Meillière, docteur-ès-sciences, Pharmacien de l'hôpital Tenon. Pendant les six années que nous avons passées près de lui, il nous a non seulement prodigué les conseils scientifiques, ce que lui rendait facile sa vaste érudition et son habileté technique, mais de plus, il nous a donné de nombreuses marques d'amitié. Qu'il veuille bien nous permettre de joindre une très vive affection à la reconnaissance que nous avons pour lui.

Nous sommes heureux de témoigner à M. Lextreit, Chef de Travaux Pratiques à l'École de Pharmacie, notre premier maître en chimie analytique, la respectueuse expression de notre cordiale reconnaissance.

Que M. le Pr Pouchet veuille bien croire à l'assurance de toute notre gratitude pour le grand honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de notre thèse.

CHAPITRE PREMIER

I. — CONSIDÉRATIONS PRATIQUES SUR L'EMPLOI DE LA BALANCE

La balance est sans contredit le plus parfait des instruments de physique ; la précision de ses mesures est presque illimitée puisque les constructeurs établissent facilement des modèles pouvant porter un kilogramme dans chaque plateau et sensibles à $1/10$ de milligramme.

C'est à elle que l'on rapporte en définitive toutes les autres déterminations : aussi est-elle l'instrument fondamental d'un laboratoire.

Outre leurs conditions de bonne exécution qui permettent de les utiliser longtemps sans altération notable les balances d'analyse doivent présenter deux qualités dont la première surtout est indispensable : ce sont la *sensibilité* et la *justesse*.

Une balance pouvant porter au moins 200^{gr} dans chaque plateau et sensible à $1/10$ de milligramme est indispensable dans un laboratoire d'analyses ; elle permet de faire à peu près toutes les déterminations ; c'est la balance de précision. Son maniement est déjà un peu délicat et demande du temps. Aussi a-t-on proposé diverses dispositions permettant d'opérer plus vite

(dispositif Curie, oscillations rapides avec appareil optique etc.)

Il est avantageux de posséder un deuxième modèle plus simple, pouvant porter 100^{gr} dans chaque plateau et sensible seulement à 1/2 milligramme. Ce sera la balance ordinaire qui suffit dans la majorité des cas et avec laquelle une pesée ne demande pas plus de 1 à 2 minutes.

C'est d'elle exclusivement que nous nous servirons dans l'application de notre procédé ; nous aurons généralement à déterminer un poids utile variant de 100 à 250 milligr. sur lequel une erreur de 0^{mg} 5 ne vaut que 0.2 à 0.5 %, limite de précision que l'on puisse demander à ces dosages.

Une balance étant solidement installée, réglée de façon que le plan d'oscillation soit bien vertical et que le fléau soit horizontal dans ce plan à la position d'équilibre (un niveau à bulle rend ce réglage facile), comment vérifie-t-on sa justesse et sa sensibilité ?

La balance est *juste* si, l'aiguille se maintenant au zéro à vide, elle y demeure encore lorsqu'on charge les plateaux de deux poids égaux. Cette condition suppose l'égalité de longueur des deux bras de levier du fléau.

La balance est *sensible* si un poids très faible fait déplacer l'aiguille d'une façon appréciable ; il est bon de répéter cet essai les plateaux étant fortement chargés. La sensibilité, en effet, serait indépendante de la charge si les arêtes des trois couteaux se maintenaient dans le même plan et on n'observerait qu'un ralentis-

sement dans les oscillations. En réalité il en résulte toujours un peu de flexion et la sensibilité diminue, mais cette diminution ne doit pas être exagérée.

En principe une balance d'analyse n'est jamais juste et c'est elle-même qui, grâce à ses qualités, va nous permettre de déceler ses imperfections.

En effet supposons que la partie efficace du fléau (distance entre les couteaux extrêmes) ait 30^{cm} de longueur et que l'un des deux bras ait 1/100 de millimètre de plus que l'autre, leurs longueurs relatives seront de 15.000 et 15.001. Il nous serait évidemment difficile de mesurer directement cette petite différence. La balance va nous la signaler avec la plus grande facilité : si nous mettons 100^{gr} dans chaque plateau, l'équilibre sera rompu et il faudra pour le rétablir ajouter environ 7^{mg} du côté du bras le plus court.

Cet écart est de l'ordre de ceux qu'on observe en pratique ; il serait bien insignifiant s'il s'appliquait exclusivement aux corps dont nous voulons connaître le poids, aucune méthode d'analyse n'atteignant cette précision. Mais la pesée portant en même temps sur un récipient, une tare, un poids mort en quelque sorte, l'écart observé serait attribué au corps analysé dont la masse (poids actif) est généralement faible. C'est un peu comme si on pesait un wagon pour connaître le poids d'un colis qu'on vient d'y placer.

Ainsi si nous pesons par exemple 100^{mg} de substance dans un vase pesant lui-même 100^{gr} et que nous attribuions les 7^{mg} d'erreur aux 100^{mg} à déterminer, notre résultat sera tout à fait mauvais.

Pour faire une pesée juste avec une balance qui ne l'est pas, on emploie les méthodes classiques de double pesée de Borda ou de Gauss.

Dans la première, on obtient l'équilibre avec une tare quelconque, grenaille de plomb par exemple et l'équilibre étant obtenu, on enlève le corps à peser qu'on remplace par des poids marqués. Le poids de ceux-ci représente évidemment le poids cherché.

Dans la deuxième, on fait deux pesées successives en changeant l'objet de plateau ; on obtient deux poids différents, P' et P'' dont on prend la moyenne proportionnelle ; on a

$$P = \sqrt{P'P''}$$

ou plus simplement, P' et P'' étant toujours très voisins, on prend la moyenne arithmétique

$$P = 1/2 (P' + P'')$$

C'est par la méthode de Gauss que l'on compare les poids à l'étalon de platine, au conservatoire national des Arts et Métiers.

On emploie encore une variante de la méthode de Borda qui est dite méthode de la charge constante et qui donne en même temps une sensibilité constante.

On met dans un plateau le poids le plus lourd dont on fasse usage et dans l'autre l'objet à peser avec les poids marqués suffisants pour obtenir l'équilibre. Une addition de substance est compensée en enlevant les poids équivalents.

Ces méthodes corrigées de la poussée de l'air donnent

des résultats justes et d'une façon absolue, ce qui est évidemment nécessaire pour étalonner des poids de précision ou pour établir une tare qui doit être conservée.

Mais pour une série de pesées faites avec la même balance on peut se dispenser de la double pesée en ayant la précaution de mettre toujours les poids du même côté ; les résultats ainsi obtenus seront tous entachés de la même erreur (1/15000 dans le cas que nous avons choisi) ce qui est assez insignifiant.

L'influence de la poussée de l'air peut amener des perturbations appréciables qu'il faut savoir corriger ; c'est elle qui fait qu'un poids de platine ne fait pas équilibre à un poids de laiton, il y a environ 9^{mg} de différence pour 100^{gr}.

On sait en effet que d'après le principe d'Archimède tout corps plongé dans un fluide perd de son propre poids le poids du fluide déplacé :

Or, le poids de l'air, le fluide déplacé ici varie avec

la température,
la pression atmosphérique,
l'état hygrométrique,
l'intensité de la pesanteur.

Cette dernière influence étant constante pour un même lieu nous n'en tiendrons pas compte.

Le poids d'un centimètre cube d'air est donné par la formule

$$P = 0^{\text{gr}} 001293 \times \frac{(H - 3/8 f)}{760} \times \frac{1}{1 + 0.00367 t}$$

formule où H est la pression atmosphérique en millim. de mesure, f est la tension de la vapeur d'eau et t la température.

Déterminons ce poids pour deux cas où les variations s'exerçant de sens contraire prendront une certaine intensité.

Nous supposerons d'abord que la température soit de 5° , la pression atmosphérique de 790^{mm} et l'état hygrométrique nul, nous aurons

$$P' = 0^{\text{gr}} 00132$$

Dans un deuxième cas, la température sera de 30° , la pression atmosphérique de 730^{mm} et l'air saturé d'humidité, nous aurons

$$P'' = 0^{\text{gr}} 00110$$

$$\text{La différence est } P' - P'' = 0^{\text{gr}} 00022$$

Si nous pesons dans les deux cas un vase contenant 30^{cc} de substance (soit environ 80^{gr} de verre) la différence sera de $30 \times 0.00022 = 0^{\text{gr}} 0066$. La même influence se faisant sentir sur le poids de laiton, cette différence se réduira à environ 5^{mg} .

Sans doute on rencontrera rarement des conditions réunies telles que nous les avons choisies, mais on observe facilement des différences de 2 ou 3 millig. en l'espace de peu de jours. Il suffit de connaître la possibilité de cette erreur pour l'éviter le cas échéant. Il faut toujours y penser lorsqu'on utilise des vases tarés à l'avance.

Hygroscopicité du verre. — Dans certaines circons-

tances, notamment par les temps froids et humides le verre condense facilement une quantité de vapeur d'eau qui, pour n'être pas visible sous forme de buée, n'en est pas moins appréciable¹ à la balance. On évite cet inconvénient en faisant séjourner le verre dans un exsiccateur.

Il est encore d'autres causes perturbatrices qu'il ne faut pas négliger. Ainsi la présence d'un foyer latéral échauffant inégalement les deux bras du fléau en rompt la symétrie ; un rayon de soleil tombant sur une seule moitié de la balance produit le même effet.

M. Jolly cité par Witz, (1) dit avoir observé une différence de 1^{mg} au bout de 7 minutes par le seul fait de la chaleur rayonnante d'une bougie placée à 1 mètre de distance et chauffant inégalement les deux bras du fléau.

On n'a, croyons-nous, guère à craindre cet échauffement si la bougie est placée en dehors d'une cage vitrée, le verre étant fort peu diathermane pour ces radiations. Nous n'avons pas observé de différence de ce fait au bout d'une demi heure et avec une charge de 50 grammes, la bougie étant très près de la cage vitrée de la balance.

Rappelons que la balance est un instrument robuste et si on observe les précautions usuelles pour effectuer les pesées, elle peut conserver très longtemps sa sensibilité. Nous citerons à ce point de vue celle que M. le Pharmacien Chef de l'Hôpital Tenon met

(1) Manipulations de physique, Paris 1883.

à la disposition de ses internes ; elle est en fonctions depuis 1883 ; nous y avons fait pour notre part plusieurs milliers de pesées et elle donne encore très aisément le $1/2$ milligramme pour une charge de 100 gr. dans chaque plateau.

II. — INSTRUMENTS DE POLYMÉTRIE CHIMIQUE

L'emploi des instruments jaugés ou gradués est fréquent, en chimie analytique. Ils sont en effet d'une grande commodité et susceptibles d'une précision suffisante.

Outre cette précision on doit leur demander encore une qualité : l'exactitude ; ces deux qualités sont analogues à la sensibilité et à la justesse de la balance. C'est naturellement avec ce dernier instrument qu'on vérifie la verrerie graduée ou jaugée et cela avec le plus de commodité et le plus d'exactitude.

Ces instruments se divisent naturellement en deux classes suivant qu'ils sont jaugés secs, c'est-à-dire d'après leur contenance réelle ou bien jaugés humides, c'est-à-dire d'après la quantité de liquide qu'ils laissent écouler dans des conditions déterminées.

A la première catégorie appartiennent principalement les ballons, éprouvettes, verres, etc., le volume de liquide mesuré est bien déterminé. Lorsqu'on doit utiliser ce liquide en totalité il est indispensable pour ne rien perdre de rincer le vase à deux reprises au moins avec le liquide approprié et de réunir le tout.

La deuxième classe contient en général les pipettes jaugées, tubes et burettes gradués. On conçoit qu'il y ait lieu de bien préciser les conditions, nature du liquide, vitesse de l'écoulement, pour en tirer des

résultats comparables entre eux. Par contre leur emploi est très commode.

PRÉCISION DES INSTRUMENTS JAUGÉS OU GRADUÉS

Une pipette, un ballon jaugés seront précis lorsque plusieurs déterminations successives donneront les mêmes valeurs avec un écart maximum très faible.

Les vases jaugés sont susceptibles de plus de précision que les vases gradués et cela d'autant plus que la partie où est inscrite le trait de jauge est plus rétrécie.

Les verres coniques sont à rejeter à ce point de vue.

Les éprouvettes cylindriques étroites sont moins désavantageuses.

Les burettes en raison de leur grande longueur sont relativement précises.

Les pipettes jaugées sur un tube rétréci et les matras à col étroit sont surtout susceptibles de donner un volume bien déterminé.

Soit un matras d'un litre dont le col ait deux centimètres carrés de section, une erreur de lecture d'un millimètre occasionnera un écart de $0^{\text{cc}} 2$. C'est-à-dire $1/5000$ de la quantité mesurée.

Une pipette de 10^{cc} jaugée à sec et portant son trait de jauge sur un tube de dix millimètres carrés de section interne donnera pour une erreur de lecture de

1/2 millimètre un écart de 0^{cc} 005 dont la valeur relative est de

$$\frac{0,005}{10} = 1/2000$$

Pour les instruments jaugés humides, l'erreur possible est au moins doublée.

Nous reviendrons plus loin sur les pipettes de petit volume.

EXACTITUDE DES INSTRUMENTS JAUGÉS OU GRADUÉS

Il ne suffit pas que deux déterminations successives soient concordantes, il faut encore que le volume mesuré ait une signification précise sinon nous perdrons tout le bénéfice de nos précautions.

On peut comprendre un jaugeage d'un grand nombre de façons.

Prenons pour exemple une carafe jaugée d'un litre. On pourra convenir que sa capacité réelle sera d'un litre à une température déterminée 0°, 4°, 15°, 20°; chacune de ces températures se recommandant par des considérations spéciales. Ainsi 0°, température de la glace fondante, est facile à réaliser; c'est à cette température que sont déterminées les densités des gaz; 4° est la température où l'eau a son maximum de densité (plus exactement 4° 07) et sert à relier les poids au système métrique; 15°, 20° sont les températures usuelles de nos laboratoires, etc.

On pourra convenir encore que notre carafe con-

tiendra 1 kilog. d'eau à l'une de ces températures (jaugeage de Mohr).

Ou bien encore que ce sera 1 kilog d'eau pesée dans l'air et sans corrections ; les variations accidentelles de densité de l'air ne sauraient occasionner une erreur supérieure à $1/5000$, erreur qui n'empêcherait pas l'instrument d'être utilisable.

Quel que soit le principe adopté, on pourra obtenir de bons résultats à la condition de jauger de la même façon, tous les instruments susceptibles d'être utilisés dans ces déterminations.

CHOIX D'UN MODE DE JAUGEAGE

Il est rationnel d'effectuer ces jaugeages à la température usuelle, celle de 15° qui en France est presque officielle dans les laboratoires ; on prendra pour base à cette température, la capacité réelle pour les vases jaugés secs et le volume réel de l'eau que laisse écouler à cette température, les instruments jaugés ou gradués humides.

Par exemple, un ballon d'un litre jaugé à 15° contiendra un litre d'eau distillée à cette température soit 999 gr. 16 d'après les tables de Rossetti.

La pesée d'un pareil poids d'eau effectuée dans l'air sec à 15° , à la pression de 760^{mm} et avec des poids de laiton doit subir une correction soustractive de $1^{\text{er}} 08$; son poids apparent sera donc de $998^{\text{er}} 08$.

Avant de faire cette détermination il convient de laisser séjourner quelque temps l'eau et la carafe dans la pièce où on opérera pour éviter diverses influences perturbatrices dues à des différences de température (mouvements de convection, condensation de vapeur d'eau).

On fera naturellement subir la même correction au jaugeage de tous les autres instruments.

On pourra opérer à une température autre que 15° en faisant les corrections nécessaires faciles à calculer d'après ce qui suit.

Un ballon d'un litre jaugé à 15° contient (Regnault) :

à	0°	15°	20°	25°	30°
	999 ^{cc} 862	1000 ^{cc}	1000 ^{cc} 138	1000 ^{cc} 276	1000 ^{cc} 414

Un litre d'eau distillée pèse. (Rossetti).

à	0°	4°	15°	20°	25°	30°
	999 ^{gr} 871	1000 ^{gr}	999 ^{gr} 160	998 ^{gr} 259	997 ^{gr} 120	995 ^{gr} 770

Le poids d'un litre d'air sec à la pression de 760^{mm} de mesure est de (Regnault).

à	0°	10°	15°	20°	25	30°
	1 ^{gr} 293	1 ^{gr} 248	1 ^{gr} 226	1 ^{gr} 205	1 ^{gr} 185	1 ^{gr} 106

La densité du laiton est de 8,43.

Nous avons là tous les éléments nécessaires pour pouvoir calculer les corrections destinées à ramener les mensurations à 15°

Soit à 20° par exemple.

Le ballon jaugeant 1000^{cc} à 15° contient à 20° 1000^{cc} 138 d'eau dont la densité est de 998,259; le poids en sera de

$$0.998259 \times 1000.138 = 998^{\text{gr}} 497$$

La différence de poussée de l'air sur cette eau et sur les poids de laiton est de

$$1.205 \left(1 - \frac{1}{8.43} \right) = 1.162$$

Le poids apparent sera donc

$$998.397 - 1.162 = 997^{\text{er}} 335$$

On trouverait de même que les poids apparents sont :

à	10°	15°	20°	25°	30°
	998.643	998.079	997.335	996.351	995.156

Si donc on veut jauger un ballon de telle sorte qu'il contienne un litre à 15°, il faudra si on opère à une autre température, mettre la quantité d'eau faisant équilibre aux poids suivants (poids de laiton) :

à 10°	998.643
à 15°	998.079 etc.

Pour les températures intermédiaires on peut sans erreur notable calculer ces poids par interpolation.

Les corrections négligées (humidité de l'air, variations de pression atmosphérique, etc.) ont une très faible influence dont on peut ne pas tenir compte.

Une cause d'erreur à éviter est l'adhérence de bulles liquides aux parois internes des vases jaugés. Ces bulles peuvent causer des perturbations d'autant plus importantes que l'instrument est de plus petite capacité, c'est-à-dire que le rapport de la surface interne au volume est plus considérable.

Cet inconvénient est dû à la présence d'une trace d'un corps adhérent au verre et insoluble dans l'eau,

tel que corps gras, essences, etc. Dès lors la surface est irrégulièrement mouillée par l'eau ; la tension superficielle est modifiée par places, et il se forme des gouttelettes qui ne s'écoulent pas, d'où diminution du volume mesuré. On observe ce phénomène lorsque, par exemple, on a mesuré du lait. Un simple lavage à l'eau chaude est insuffisant pour y remédier, mais on y arrive aisément soit avec un peu d'alcool ammoniacal, soit avec de la lessive de soude étendue et chaude.

PIPETTES DE PETITES DIMENSIONS

Pour faire un essai tel que nous l'indiquons, on a à mesurer de très petites quantités de liquide et pour cela l'emploi des burettes graduées est absolument insuffisant.

En effet, avec la burette de Mohr ou tout autre instrument analogue on ne peut guère apprécier une quantité plus petite que $1/2$ dixième de centimètre cube. Or si nous mesurons 2^{cc} avec cette approximation, nous pourrions avoir un écart de $0^{\text{cc}}05$ soit $2,5 \%$ du volume mesuré. Comme nous nous proposons d'obtenir des résultats à 0.5% près, ce mode de mesurage est à rejeter.

Si, partant d'un volume déterminé de liqueur de Fehling, nous lui ajoutons la quantité suffisante de solution sucrée, nous ne pourrions évidemment mesurer cette dernière quantité avec une approximation suffisante que si son volume est assez considérable, et pour

cela elle devra être diluée suffisamment. Mais cette dilution est une opération de plus qui prend du temps et qui apporte sa part d'incertitude.

Il en est tout autrement pour la méthode pondérale ; ici nous mettons encore un volume déterminé de liqueur de Fehling, mais nous ajoutons également un volume déterminé de la solution sucrée, ce qui est infiniment plus facile à mesurer. Pour cela nous n'aurons besoin que d'une batterie de pipettes jaugées, mais jaugées avec exactitude et soigneusement vérifiées.

C'est qu'en effet, celles qu'on trouve dans le commerce sont loin de mériter une confiance aveugle. De plus nous avons vu qu'il y a plusieurs façons de comprendre leur jaugeage et chaque constructeur, à moins d'indications spéciales, suit telle règle de préférence à telle autre.

Pour qu'un tel instrument puisse nous rendre les services que nous en attendons, il devra remplir les deux conditions étudiées ci-dessus, c'est-à-dire être exact et être précis.

De l'exactitude nous n'avons rien à dire ici, sinon qu'elle doit être vérifiée par la balance d'après les indications que nous avons données.

Précision. — Les pipettes sont habituellement jaugées humides, d'après la quantité d'eau qu'elles laissent écouler ; leurs indications ne sont donc pas tout à fait justes pour un autre liquide tel que l'acool ou l'éther dont la viscosité et la tension superficielle sont différentes.

Elles appartiennent à deux types principaux suivant

qu'elles sont à deux traits ou à un seul trait. Dans le premier cas, le liquide arrive primitivement jusqu'au trait supérieur et on le laisse écouler jusqu'à ce qu'il arrive au trait inférieur; dans celles à un trait, au contraire, on abandonne l'écoulement jusqu'à ce qu'il cesse de lui-même.

On admet généralement que les pipettes à deux traits sont plus précises et cela peut-être parce qu'elles sont plus incommodes.

S'il est vrai qu'une colonne liquide mesurée entre deux repères bien nets doive l'être rigoureusement, il n'est pas moins vrai qu'avec un seul trait on se trouve à peu près dans les mêmes conditions pourvu que l'extrémité inférieure de la pipette soit régulière et que, selon l'usage, on laisse écouler le liquide en tenant cette extrémité appuyée obliquement contre la paroi du récipient. Le liquide s'arrête toujours à la même hauteur et, en tous cas, cette extrémité inférieure étant très rétrécie, un petit écart a fort peu d'importance.

Évaluons approximativement la précision sur laquelle nous pourrions compter et prenons comme exemple une pipette de 10^{cc}.

Le trait de jauge est inscrit sur un tube dont le diamètre intérieur a , je suppose, de 3 à 4^{mm} de diamètre, soit 10^{mmq} de section.

Sur quelle hauteur hésiterons-nous pour la lecture ?

Un œil de physicien apprécie très bien 1/10 de millimètre, mais sans supposer cette éducation technique spéciale, nous pouvons être sûrs de ne pas nous trom-

per de plus de $1/2$ millimètre ce qui, pour 10^{mmq} de section fait sensiblement 5^{mg} d'eau.

Si nous avons un trait supérieur et un trait inférieur, dans les cas les plus défavorables, l'écart sera de sens contraire et nous pourrons trouver soit 10^{mg} en plus, soit 10^{mg} en moins.

Cet écart maximum de 20^{mg} sur 10^{gr} ne fait qu'une erreur de $2/1000$; de plus on ne l'observera que rarement puisque nous avons supposé toutes les mauvaises chances réunies.

Avec une pipette à un seul trait, l'approximation n'est pas inférieure et pour une capacité de 10^{cc} , ces deux modèles pourront nous servir après vérification.

Pour les pipettes plus grandes, de 25^{cc} , 50^{cc} , 100^{cc} l'erreur absolue n'augmente guère et l'écart est relativement moins important.

Inversement, si le volume diminue, l'écart sera de plus en plus appréciable; une différence de 10^{mg} sur 1^{cc} d'eau donne une erreur inacceptable de 1% .

PIPETTES PRÉCISES ET D'UNE FABRICATION FACILE

Si nous voulons mesurer exactement de très petits volumes, il nous faudra faire subir à ces instruments une légère modification et nous pourrons exécuter nous même ce petit travail.

Pour cela, un petit tube de verre de grosseur et de longueur convenables est étiré assez fin à un bout pour faire la pointe de la pipette.

Nous marquons à l'encre, approximativement le

volume à déterminer ; nous pesons le poids d'eau qui s'écoule à partir du trait et d'après les indications de la balance, nous déplaçons ce trait jusqu'à obtenir à 1 ou 2 centigrammes près le poids voulu.

Cela fait, on étire le tube sur le trait même, de façon que la partie rétrécie n'ait plus que 2 ou trois millimètres carrés de section intérieure. Le trait s'est déplacé mais il limite toujours à peu près le même volume, et c'est à son voisinage immédiat que nous aurons à inscrire le trait définitif à l'encre fluorhydrique, après vérification par la balance.

Si le tube est d'un diamètre assez fort, par exemple pour une pipette de 5^{cc}, la partie supérieure qui doit être obturée par le doigt ayant une surface relativement considérable, les déformations de la pulpe du doigt suivant la pression exercée rendent un peu difficile l'affleurement au trait de la partie rétrécie. On évite cet inconvénient en étirant un peu la partie supérieure du tube avant d'y donner le coup de lime, de façon à ne lui laisser que deux ou trois millimètres de diamètre interne.

On doit recueillir l'eau à peser dans un vase à ouverture étroite pour en éviter l'évaporation. Avec un récipient évasé, une capsule par exemple, la perte peut être considérable pendant le seul temps nécessaire pour faire ces quelques essais.

Nous obtiendrons ainsi un instrument peu élégant sans doute, assez fragile et d'une faible valeur marchande, mais qui aura toute la précision voulue, ce qui vaut bien quelque chose.

Nous rejetterons systématiquement les pipettes cylindriques si employées pour les petits volumes, de même que celles qui sont jaugées et graduées sur la partie large, car la moindre erreur de lecture y prend de suite une importance considérable.

VITESSE D'ÉCOULEMENT

Les conditions que nous venons d'indiquer sont nécessaires, mais il en est encore une à ne pas négliger : c'est la vitesse d'écoulement.

Puisque ces instruments sont jaugés, non d'après leur capacité réelle, mais d'après le volume de liquide qu'ils laissent écouler, il faut, pour avoir des indications exactes, bien préciser les conditions où l'on se place, car le liquide qui reste adhérent aux parois s'écoulant lui-même avec une vitesse variable et rapidement décroissante, l'instrument indiquerait une capacité d'autant plus grande qu'on attendrait plus longtemps

Pour parer à cette cause d'erreur en déterminant les conditions de l'opération, le plus simple est d'attendre simplement que le liquide se soit écoulé de lui-même, la pointe de l'instrument étant en contact avec la paroi du récipient.

Mais il est nécessaire que cet écoulement soit suffisamment lent, sinon une petite différence de détail donnera un écart appréciable rendu plus sensible encore s'il s'agit de liquides de consistance différente : solutions aqueuses de sucre, urine, lait, etc.

Il ne faut évidemment pas souffler pour chasser le peu de liquide qui reste dans la pointe de l'instrument.

Cette question de la vitesse de l'écoulement a une grande importance et mérite d'être réglée. Aussi, au 2^e Congrès international de Chimie appliquée (Paris, 1896), l'Association des chimistes allemands présenta-t-elle un projet de règlement portant entre autres points que le temps d'écoulement fût compris entre les limites suivantes :

de 12 à 17 secondes pour un instrument de 10 ^{cc}			
de 15 à 20	—	—	30 ^{cc}
de 20 à 30	—	—	100 ^{cc}
de 30 à 40	—	—	plus de 100 ^{cc}

l'écoulement final étant terminé un quart de minute après la clôture de l'écoulement général.

Voici, à titre de renseignement, l'approximation que la même association demandait pour les pipettes.

Elle désirait que les erreurs maxima ne fussent pas supérieures à

0 ^{cc} 01 pour	2 ^{cc} ,	soit une approximation de	1/200
0 ^{cc} 02 —	10 ^{cc} ,	—	1/300
0 ^{cc} 03 —	30 ^{cc} ,	—	1/1000
0 ^{cc} 05 —	75 ^{cc} ,	—	1/1500
0 ^{cc} 10 —	200 ^{cc} ,	—	1/2000

Celle de 1^{cc} n'est pas citée.

L'écart toléré pour les pipettes de 2^{cc} est bien supérieur à celui que nous observons avec le modèle décrit ci-dessus.

CHAPITRE II

I. — DETERMINATION ANALYTIQUE DES MÉLANGES DE SUCRES

Les principaux sucres qui peuvent se présenter à l'examen clinique sont : le *glucose*, le *lévulose* et le *galactose*, parmi les hexoses : le *saccharose*, le *lactose*, et le *maltose* parmi les hexobioses ou disaccharides.

De quelle façon peut-on caractériser ces composés et comment peut-on apprécier leur proportion ?

Leurs propriétés générales sont de même ordre ; ils sont doués de pouvoir rotatoire et, sauf le saccharose, ils sont réducteurs et se colorent en jaune ou en brun par les alcalis ; quelques uns peuvent fermenter sous l'influence des levûres ou d'autres microorganismes.

Lorsque l'un deux présentera seul une propriété analytique, nous nous en saisirons bien vite pour tâcher de l'identifier. Ainsi, le saccharose qui n'est pas réducteur, mais qui le devient après avoir subi l'action des acides se laissera reconnaître dans un mélange par deux essais successifs où il se présentera sous les deux états.

Le même saccharose qui est dextrogyre devientlévoyre après cette transformation appelée pour cela

intersion ou inversion. Il donne par là un deuxième moyen de diagnose pouvant contrôler le premier.

Le lactose et le maltose, deux autres hexobioses, sont de même susceptibles de se dédoubler par l'action des acides, de s'hydrolyser ou, comme on dit quelquefois par abus de langage, de s'intervertir, bien que leur pouvoir rotatoire ne change pas de signe.

Ici la transformation est moins facile que pour le saccharose. Ce dernier, en effet, en solution avec quelques millièmes d'un acide minéral est transformé presque instantanément à l'ébullition, et le produit obtenu, le sucre inverti est totalement différent du produit primitif.

Avec le lactose, au contraire, l'hydrolyse pour être complète demande plusieurs heures à l'ébullition et le produit de transformation ne diffère du lactose lui-même au point de vue qui nous occupe, que par une légère augmentation et du pouvoir réducteur et du pouvoir rotatoire.

De même avec le maltose, l'hydrolyse est lente et la transformation s'accuse par une augmentation du pouvoir réducteur et une diminution du pouvoir rotatoire.

Nous ferons remarquer ici le parti que l'on peut tirer de l'aptitude différente à l'hydrolyse de ces trois sucres. Si, en effet, un mélange contient du saccharose à côté des deux autres ou de l'un d'eux seulement, on pourra, en ne prolongeant l'action que juste le temps nécessaire, l'intervertir, sans modifier sensiblement les autres.

Nous avons vérifié ce fait pour le saccharose et le lactose ; une ébullition de 2 minutes avec XX gouttes d'acide chlorhydrique pour 100^{cc} de solution remplit bien le but.

Quant nous aurons à faire à l'une de ces trois hexobioses, la détermination précise du pouvoir réducteur et du pouvoir rotatoire avant et après la transformation nous donnera souvent la solution du problème.

Pourtant, on conçoit que s'ils sont mélangés en proportions variables, la question va devenir très ardue et cela d'autant plus que les produits de dédoublement peuvent s'altérer sous l'influence des réactifs.

Soit par exemple un mélange pouvant contenir simultanément du sucre inverti et du lactose. Si on veut déterminer les propriétés optiques et réductrices d'un tel mélange avant et après le dédoublement du lactose par l'acide chlorhydrique, une notable proportion du lévulose aura déjà été détruite dans le second cas ; son pouvoir rotatoire est d'abord altéré. Son pouvoir réducteur lui-même disparaît graduellement et cela à tel point que l'on a indiqué un procédé de dosage de ce sucre basé sur sa destructibilité : on détermine le changement de pouvoir réducteur d'une solution après 3 heures d'ébullition avec de l'acide chlorhydrique étendu, changement que l'on attribue au lévulose. Ce procédé ne saurait pourtant donner des résultats irréprochables car, au bout de ce temps, le lévulose n'est pas encore tout détruit alors que le glucose par exemple et surtout le galactose sont notablement altérés.

Ainsi, si précieux que soit l'examen des propriétés réductrices, il est souvent insuffisant. Divers autres ordres de considérations sont encore mis à profit. Et d'abord la fermentation.

EMPLOI DE LA FERMENTATION

On sait que sous l'action de diverses levûres, (*Sacch. cerevisiæ*, *apiculatus*, *ellipsoïdeus*, etc.), le glucose, le lévulose, le maltose entrent en fermentation en donnant comme produits principaux de l'alcool et de l'acide carbonique. Le saccharose ne fermentepas directement, il a besoin d'êtreinverti, maiscette transformation est effectuée rapidement par la levûre elle-même, grâce à l'un de ses produits de sécrétion, l'*invertine*, si bien que le phénomène apparent est le même, le saccharose fermente.

Le galactose fermente difficilement; pourtant en présence d'autres sucres, dextrose, lévulose, maltose, il est entraîné à fermenter (1), et le lactose s'il y en a reste comme résidu.

Mais le galactose ne fermente pas avec le *Sacch. apiculatus* (2) non plus que le lactose d'ailleurs. Ainsi le *Sacch. apic.* permettrait d'isoler le galactose et le lactose d'un mélange plus complexe.

Le lactose peut lui même fermenter sous l'influence de diverses levûres ou bactéries.

(1) Bourquelot (C. R. t. CIV p. 283).

(2) Voit (Z. f. Biol. t. XXIX p. 149).

Le képhyret et le koumys sont des boissons fermentées obtenues avec le lait. On a pu isoler un certain nombre de ces levûres (lev. de Duclaux, de Kayser etc.)

On a appliqué la fermentation à des déterminations quantitatives ; mais elle n'est guère susceptible de donner des résultats précis et son utilité paraît moins grande que comme moyen de diagnose.

Quelques autres champignons peuvent également faire fermenter le glucose ; certain *mucors* par exemple.

Les microbes eux-mêmes peuvent servir à la caractérisation des sucres, et on a pu isoler un certain nombre de coli-bacilles qui, dans un milieu nutritif, donnent des bulles gazeuses avec tel sucre et non avec tel autre.

EMPLOI DE LA PHÉNYLHYDRAZINE

La découverte des osazones par E. Fischer (1) a doté la science d'une nouvelle méthode qui, outre ses applications à la synthèse des sucres, peut rendre de grands services en chimie biologique.

La formation d'osazone est précédée de celle d'une hydrazone. Cette dernière est liée à la fonction adéhydrique ou cétonique ; elle se fait à froid.

A chaud et avec un excès de phénylhydrazine, la réaction se poursuit, il y a d'abord oxydation de la fonction alcool voisine et combinaison avec une nou-

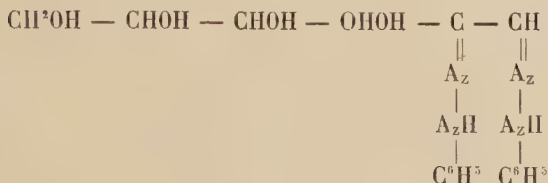
(1) D. Ch. Ges. t. XIX p. 1920.

velle molécule de phénylhydrazine, ce qui donne l'osazone.

Phénylglucoshydrazone ou glucoshydrazone



Phénylglucososazone ou glucososazone



Les osazones sont fort peu solubles et se précipitent progressivement. Cependant la lactosazone, la maltosazone sont assez solubles à chaud. En solution étendue, elles précipitent surtout par le refroidissement. On peut donc par l'emploi de la phénylhydrazine séparer le maltose ou le lactose des autres sucres.

Le saccharose ne donne pas d'osazone directement, mais il est facilement dédoublé pendant la réaction sous l'influence des acides et donne de la glucosazone.

Pour préparer les osazones, Fischer indique de chauffer pendant 1 heure 1/2 au bain marie,

- 1 partie de sucre,
- 2 parties de chlorhydrate de phénylhydrazine,
- 3 parties d'acétate de soude,
- 20 parties d'eau.

Nous nous sommes bien trouvé du procédé suivant indiqué dans un autre but par Maquenne (1). La so-

(1) C. R. t. CXII p. 799.

lution est chauffée 1 heure 1/2 avec 5 % en volume du réactif suivant :

Phénylhydrazine....	40 ^{er}
Ac. acétique crist...	40 ^{er}
Eau pour faire 100 ^{cc} .	Q.S.

Ce réactif cristallise par le refroidissement ; on le liquéfie au bain marie au moment de l'usage. Il est d'une bonne conservation.

Pour examiner l'urine par ce procédé nous commençons par la déféquer soigneusement au sous-acétate de plomb et le précipité est mis de côté pour un examen ultérieur s'il y a lieu. L'excès de plomb est enlevé par une solution concentrée de sulfate de soude et le liquide filtré additionné du réactif ci-dessus est maintenu 1 heure 1/2 au bain marie bouillant. Pour nous exempter de toute surveillance nous l'enfermons en un tube fermé à la lampe.

Le liquide est filtré chaud et les cristaux lavés à l'eau bouillante sur le filtre ; le liquide filtré, non dilué par l'eau de lavage est mis à refroidir en prévision de la formation éventuelle de nouveaux cristaux. De cette façon nous avons obtenu de très belles osazones d'un jaune d'or, soyeuses et bien cristallisées.

La détermination du point de fusion de ces produits est très importante puisqu'elle peut permettre de caractériser un sucre. Elle se fait avec une grande facilité et en opérant sur une fraction de milligramme de substance (1).

(1) Jungfleisch (Manipul. de chimie Paris 1893 p. 132).

Voici la disposition très commode employée par M. Meillière pour cette détermination, en se servant d'acide sulfurique comme bain.

Un petit ballon à col un peu large porte d'abord une tubulure latérale reliée à une trompe à eau pour absorber les vapeurs d'acide sulfurique qui peuvent se dégager.

Un tube mince d'un diamètre suffisant et ouvert aux deux bouts (un tube à essais dont on a coupé la partie fermée) porte près de sa partie inférieure un petit cercle de toile de platine qui y est incrusté par un commencement de fusion du verre ; il est placé dans le ballon ci-dessus et c'est sur la toile de platine que reposent côte à côte le thermomètre et le tube effilé contenant la substance essayée.

Suivant la façon d'opérer on peut trouver des résultats assez différents. Fischer qui a déterminé les points de fusion des osazones en chauffant rapidement (il atteignait 195° en 3 minutes) a trouvé des nombres un peu plus élevés que d'autres opérateurs. Aussi est-il prudent de faire ces déterminations par comparaison avec des produits authentiques.

Nous avons toujours trouvé 204-205° pour la glucosazone mais pour la galactosazone nous avons trouvé 184-185° seulement au lieu de 193° (Fischer).

RÉACTIONS DIVERSES

Il est bien d'autres procédés de séparation ou de caractérisation qui ont été préconisés et qui trouvent leurs indications spéciales,

L'acétate de plomb ammoniacal retient surtout le lactose et le lévulose et Hofmeister a tiré partie de cette propriété pour extraire des traces de lactose de ses solutions.

Le lévulose se laisse bien séparer sous forme de combinaison calcique.

Diverses réactions colorées : réaction de Rubner, réaction de Sélivanoff, réaction à l' α -naphtol, etc. (1), trouvent leur application. Nous ne saurions les étudier ici sans nous étendre outre mesure.

Nous allons voir ce que nous pourrons tirer de l'examen polarimétrique et surtout des essais par réduction.

(1) V. Tollens et Bourgeois (*loc. cit.*)

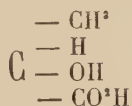
II. ESSAIS POLARIMÉTRIQUES

Le pouvoir rotatoire des substances liquides et des substances solides en dissolution est dû à la dissymétrie moléculaire (Pasteur). MM. Lebel et Van't Hoff ont montré que cette dissymétrie moléculaire est elle-même liée à la présence d'un atome de carbone asymétrique, c'est-à-dire tel que ses quatre valences soient satisfaites par quatre groupements différents. Un tel atome de carbone ne contient en effet plus de plan de symétrie.

L'acide lactique, par exemple,

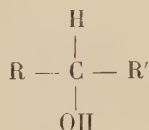


que l'on peut aussi écrire



a son atome de carbone médian saturé par quatre groupements différents ; il doit posséder et possède le pouvoir rotatoire.

La fonction alcool secondaire



si commune dans la constitution des sucres, engendre facilement le pouvoir rotatoire ; il suffit que R et R' soient différents. Aussi tous les sucres sont ils actifs

sur la lumière polarisée ; ils sont dextrogyres ou lévogyres à des degrés différents. La constatation et la mesure de ce pouvoir rotatoire sont mises à profit pour la détermination de ces composés.

MULTIROTATION

Il y a lieu de remarquer que sous certaines influences cette propriété optique peut induire en erreur. La plupart des sucres en solution récente et faite à froid possèdent en effet un pouvoir rotatoire temporaire tout différent de ce qu'il sera 24 heures après. L'ébullition rend très rapide cette transformation. Cette propriété, des sucres a été suivant le cas, appelée birotation, trirotation ou, plus généralement, multirotation.

ALTÉRATIONS DU POUVOIR ROTATOIRE

D'autres considérations encore ne sont pas négligeables ; ainsi le sous-acétate de plomb fait baisser le pouvoir rotatoire du lactose et l'acide acétique le ramène au point normal (Pellet).

Les sucres réducteurs chauffés à l'autoclave en présence de carbonate de chaux perdent une partie notable de leur pouvoir rotatoire sans altération importante de leurs propriétés réductrices, fait qui a également été constaté par M. Grimbert. C'est là un gros inconvénient pour étudier l'action microbienne sur ces sucres. On sait en effet qu'il se forme dans ces des-

tructions des produits acides dont les infiniments petits s'accomodent très mal ; l'opération s'arrêterait bientôt d'elle-même si on n'y ajoutait du carbonate de chaux qui sature les acides au fur et à mesure de leur production. Mais en stérilisant les sucres à haute température en présence de carbonate de chaux leur pouvoir rotatoire est abaissé d'environ 30 % ; celui du saccharose seul n'est pas modifié.

VARIATIONS NORMALES DU POUVOIR ROTATOIRE

Le pouvoir rotatoire des divers sucres varie avec la concentration de la solution et la température. L'écart que l'on peut observer ainsi, est assez faible dans le cas du saccharose, du lactose, du maltose et du glucose pour qu'on se dispense généralement d'en tenir compte dans la pratique.

Il n'en est pas de même pour le galactose et surtout pour le lévulose et le sucre inverti.

APPLICATION A L'ANALYSE

Pour les quatre sucres ci-dessus on a

	Pour rotat. spécifique $[\alpha]_D$	Poids normal français π	Poids normal allemand éch. de Wenzke
Glucose	52.73	20 ^{gr} 49	32 ^{gr} 765
Saccharose.....	66.51	16 26	26 000
Lactose	52.53	20 60	32 470
Maltose.....	138.30	7 80	12 510

Le poids normal est la quantité de substance supposée pure et sèche que doit contenir 100^{cc} de solution pour donner une déviation de 100 degrés saccharimétriques avec un tube de 20^{cm}.

Avec l'échelle française, 100° saccharimétriques sont équivalents à la rotation d'un millimètre de quartz soit 21°40'. L'échelle allemande est purement empirique.

Le poids normal du sucre de canne officiel en France est 16^{gr}19, mais on s'accorde généralement à le trouver un peu faible.

Le tableau ci-dessous nous permet de calculer la valeur du degré saccharimétrique pour chacun des sucres. Il faudra en effet pour un litre de solution 10 fois ce poids normal pour avoir 100° saccharimétriques ; un degré saccharimétrique vaudra donc la dixième partie du poids normal soit :

Valeur du degré saccharimétrique.

	<i>c</i>
Glucose	2 ^{gr} 049
Saccharose.....	1 626
Lactose	2 060
Maltose.....	0 780

Avec ces coefficients, pour avoir la teneur d'une solution sucrée par litre, il n'y a qu'à multiplier par *c* la déviation obtenue en degrés saccharimétriques.

Nous ferons remarquer ici que le coefficient 2.22 donné pour le glucose dans les ouvrages classiques est notablement trop fort.

Pour le galactose et le lévulose il faut prendre pour $[\alpha]_D$ la valeur qui convient aux conditions de l'expérience et en tirer π et *c*,

On a :

$$p = \frac{\alpha v}{[\alpha]_D l}$$

formule au p est le poids de sucre en grammes

l , la longueur du tube en décimètres;

v , le volume de la solution en centim. c.

$[\alpha]_D$, le pouvoir rotatoire spécifique;

α , la rotation observée exprimée en degrés de circonférence.

Si α' est la déviation en degrés saccharimétriques on a :

$$\alpha = 0.2167 \alpha'$$

On en tire pour $v = 100$ et pour $l = 2$.

$$p = \frac{0.2167 \alpha' \times 100}{[\alpha]_D \times 2} = \frac{10.835 \alpha'}{[\alpha]_D}$$

Si maintenant on a fait $\alpha' = 100$, on aura $p = \pi$, d'où

$$\pi = \frac{1083,5}{[\alpha]_D}$$

Nous savons que

$$c = \frac{\pi}{10} = \frac{108.35}{[\alpha]_D}$$

En France on n'emploie plus guère que le polarimètre à pénombre de Laurent ou des instruments qui en sont des réductions.

Ces appareils sont en effet deux fois plus sensibles que ceux de Soleil. De plus le dispositif à pénombre est également avantageux pour tous les yeux.

LA SENSIBILITÉ DU POLARIMÈTRE EST D'ORDRE ABSOLU

Quelle précision pouvons-nous demander au polarimètre?

Et d'abord l'approximation sur laquelle on peut

compter est d'ordre absolu ; l'instrument supposé bien établi, il ne peut y avoir d'erreur que dans l'hésitation pour la lecture de la déviation et un peu aussi pour la détermination du zéro.

Soit ε la petite erreur que l'on peut commettre en plus ou en moins et α' la déviation observée ; la déviation réelle est comprise dans les limites de $\alpha' \pm \varepsilon$. Que α' soit 2° ou 100° , ε ne change pas. On conçoit qu'un tel appareil soit surtout précis lorsque la quantité de substance active est considérable.

PRATIQUE D'UNE DÉTERMINATION

Une des conditions indispensables pour une bonne opération, c'est d'avoir un éclairage très intense avec une flamme d'un jaune très pur. Ces conditions sont bien remplies par un fort bec de Bunsen brûlant avec un excès d'air et dans la flamme duquel on maintient une petite corbeille de fil de platine contenant du chlorure de sodium desséché.

On obtient ainsi une flamme jaune, éblouissante qui, examinée au spectroscope, ne montre presque exclusivement que la double raie D du sodium, alors que la flamme du bec lui-même donne un spectre à peu près nul.

Si la lumière faiblit ou si la quantité de chlorure de sodium est insuffisante, la sensibilité est notablement diminuée, principalement avec des liquides dont la limpidité ou la décoloration laissent quelque peu à désirer.

Si de plus, le bec brûlant mal donne indépendamment du sodium une flamme quelque peu colorée, on n'observe que la résultante des rotations pour les diverses radiations émises et les résultats sont entachés d'une erreur.

Pour avoir un éclairage constant on a proposé d'employer une lumière blanche, lampe à gaz ordinaire, bec à incandescence, que l'on tamise par une solution de bichromate de potasse. Il est difficile de purifier suffisamment une telle lumière ; son spectre contient encore une notable proportion de rayons rouges et de rayons verts qui faussent déjà les résultats pour de faibles déviations et qui rendent à peu près impossible la détermination d'une rotation considérable. Dans ce dernier cas en effet, au lieu d'observer deux demi-disques jaunes également éclairés, on observe du rouge d'un côté et du vert de l'autre, deux couleurs avec lesquelles il est difficile d'établir des comparaisons.

Il faut aussi vérifier que les deux glaces servant à obturer le tube ne donnent pas de déviations par elles-mêmes, ce qui arrive parfois avec des verres irrégulièrement trempés. D'autre part, il convient de ne pas serrer ces glaces trop fort entre le tube et son collier ; on pourrait encore là leur donner un certain degré de dissymétrie. On vérifie que ces glaces sont bien isotropes et ne donnent par elles-mêmes aucune déviation en déterminant le zéro avec ou sans le tube ; on doit tomber au même point autant que le permet la sensibilité de l'instrument.

Ces considérations ont leur importance, car il est

souvent avantageux de pouvoir repérer son zéro immédiatement après une détermination.

En effet, il arrive assez fréquemment que, soit fatigue de l'œil, soit modification de l'éclairage, soit échauffement de l'appareil optique, la déviation observée soit quelque peu modifiée. On atténue la portée de cette perturbation en déterminant immédiatement après la position du zéro et en faisant la correction s'il y a lieu. Pour cela, on enlève le tube, on remet la lunette au point et on examine rapidement.

PRÉCISION DU POLARIMÈTRE

Sur quelle approximation peut-on compter ?

Indépendamment de la qualité de l'appareil, il y a encore, en quelque sorte l'équation personnelle de chaque opérateur. Les chimistes de l'industrie du sucre prétendent assurer le dixième de degré saccharimétrique, ce qui suppose une assez grande habitude. Il est en général difficile d'atteindre ce résultat avec nos liquides de provenances diverses, qu'il n'est pas toujours commode d'obtenir dans des conditions parfaites pour une détermination.

Si, opérant comme il est d'usage, dans une pièce sombre et la tête recouverte d'un voile noir, on fait plusieurs fois de suite la même détermination on observe des différences pouvant atteindre 5 ou 6 dixièmes de degré saccharimétrique. En faisant un certain nom-

bre d'essais et en prenant la moyenne, on se rapproche évidemment de la réalité.

Pour l'usage, on emploie des artifices permettant d'augmenter cette sensibilité ; voici, par exemple, comment on peut procéder :

L'égalité des deux demi-disques étant à peu près obtenue, on tourne le bouton molleté alternativement à droite et à gauche, en produisant une oscillation assez rapide dans laquelle les petites différences d'intensité deviennent plus appréciables ; on en resserre de plus en plus les limites jusqu'à ce que l'œil n'observe plus de changement.

Ou bien encore, opérant d'une façon analogue, on tourne légèrement le bouton de manière à obtenir une différence faible mais nette entre les deux demi-disques et on fait une lecture ; on recommence en produisant l'inégalité contraire et on refait une lecture. Ces deux nombres diffèrent généralement de 0°6, 0°8, 1°0 suivant les conditions ; leur moyenne sera près de la réalité. Ce procédé surtout nous a toujours donné de bons résultats.

Il y a aussi un avantage notable pour les liquides incolores et très limpides, à diminuer la lumière par la manœuvre du petit levier adapté à cet effet.

En opérant ainsi et avec des liquides clairs, il est rare que deux déterminations successives diffèrent de plus de 0°2. Avec un liquide un peu teinté ou d'une limpidité douteuse la sensibilité est naturellement diminuée.

EXAMEN POLARIMÉTRIQUE DU LAIT DE FEMME

La coloration n'est pas toujours un obstacle à l'examen polarimétrique et P. Thibault (1) a été amené pour le dosage polarimétrique du lactose dans le lait de femme à précipiter ce dernier par un réactif acéto-picroïque. On obtient ainsi un sérum d'un jaune intense qui se prête pourtant fort bien à cet essai.

On sait en effet, à propos du lait de femme, combien les procédés ordinaires de défécation sont défectueux pour-en obtenir un sérum limpide, la filtration est très lente et le produit obtenu reste louche.

Esbach (2), Denigès (3), Thibault (4), ont donné successivement des procédés de précipitation rendant cette opération moins laborieuse.

Ayant quelques déterminations à faire à ce sujet, nous avons constaté que du lait de femme additionné de 1/2 volume de sous-acétate de plomb liquide à 1/5, agité puis additionné encore de 1/2 volume de sulfate de soude à 1/10 et jeté sur un filtre donne immédiatement un sérum d'une limpidité parfaite que nous avons indiqué à M. Delamare (5) pour les essais de ce lait par réduction.

(1) *Journal de Ph. et de Ch.* 1896 2^e semestre.

(2) *J. des Con. méd.* 1881 (analyse complète du lait).

(3) Contribution à l'étude des lactoses (Thèse Ec. sup. Ph^{ci}e Paris 1892).

(4) *Loc. cit.*

(5) Thèse Paris 1899.

Nous faisons naturellement les réserves qu'il convient au point de vue du dosage polarimétrique puisque les travaux des auteurs ci-dessus tendent à établir la présence dans ce sérum de substances lévogyres et non réductrices, de sorte que les chiffres accusés par le polarimètre seraient toujours trop faibles.

APPLICATION DU POLARIMÈTRE AUX MÉLANGES COMPLEXES

D'après ce que nous avons vu plus haut, on peut par un essai polarimétrique compter sur une approximation absolue d'environ 0^{gr}50 de glucose par litre.

Connaissant notre appareil, il est facile de voir ce que nous pourrions en retirer.

La déviation observée est la résultante de la rotation individuelle due à chacune des substances actives en présence. Une déviation à gauche, et s'il s'agit exclusivement de sucres, indique le lévulose ; pourtant il faut souvent compter avec la formation possible d'une certaine quantité de substances lévogyres et de nature différente : d'autre part, cette déviation à gauche peut être diminuée par la présence d'un sucre dextrogyre.

Une déviation à droite est bien moins significative, puisque la plupart des corps qui nous occupent sont dextrogyres. Il y aura lieu de répéter l'essai :

Après l'hydrolyse du saccharose possible (2 min. d'ébullition avec XX gouttes d'acide HCl pour 100^{cc} de solution).

Après l'hydrolyse du maltose et du lactose (2 h. à 110° avec la même proportion d'acide) ;

Après l'épuisement de l'action du *Sacc. apicul.* (lactose, galactose) ;

Après épuisement de l'action du *Sacch. cerevisiæ*, en aidant au besoin cette deuxième fermentation par une addition convenable de glucose (lactose) ;

Les levûres de la lactose elles-mêmes peuvent-être utilisées soit comme confirmation de diagnose, soit pour laisser un résidu d'une autre nature.

Enfin, tous ces résultats peuvent être comparés à ceux de la réduction par différentes liqueurs.

Ces sucres seront le plus souvent en petites quantités ; par conséquent le polarimètre sera peu avantageux et cela d'autant plus qu'une foule de causes peuvent modifier le pouvoir rotatoire. De plus cet examen exige un certain volume de liquide.

Les méthodes par réduction, au contraire, conservent leur sensibilité même pour de faibles quantités et permettent d'opérer sur quelques centimètres cubes ou au besoin sur quelques gouttes du liquide sucré.

Leur emploi est donc plus général. Nous verrons qu'il est susceptible d'une grande précision.

III. — DOSAGES PAR RÉDUCTION

Un grand nombre de métaux, cuivre, argent, mercure, bismuth, etc, etc., particulièrement en solution alcaline, se laissent réduire partiellement ou totalement par les sucres.

Le plus employé et le plus important est le cuivre.

Trommer (1) le premier signala le fait pour ce dernier métal et en fit l'application à la recherche du sucre dans l'urine.

Il mélangeait dans un tube :

5^{cc} d'urine

1 ou 2^{cc} de solution de potasse à 1/10

puis y ajoutait goutte à goutte et à froid, une solution de sulfate de cuivre à 10 o/o jusqu'à obtention d'un précipité bleu permanent.

La coloration bleue de la liqueur indiquait le sucre ; en chauffant il y avait réduction partielle et formation d'oxyde rouge Cu_2O .

Bareswil en France (2), Fehling en Allemagne (3) donnèrent des formules de solution toute préparées encore utilisées de nos jours.

Depuis on a publié, un grand nombre de formules

(1) (*Lieb. annal.* t. XXXIX p. 361).

(2) (*Journal Pharm.* 3^e série t. VI p. 301).

(3) (*Lieb. annal.* t. LXXII p. 106).

qui ne sont que des variantes des précédentes ; on a conjuré l'altérabilité du réactif en faisant deux liqueurs séparées.

Plus récemment on a proposé des formules où l'on supprime la matière organique (ac. tartrique) et où l'on remplace les alcalis caustiques par du bicarbonate de potasse (liq. de Sodaini, d'Ost, etc.)

On a conseillé d'autres réactifs encore, tel que la liqueur de Barfæld (acétate de cuivre acétique) qui est plus difficile à réduire.

Avec le bismuth, Böttger (1) a indiqué une réaction analogue à celle de Trommer ; chauffer ensemble :

5^{cc} d'urine ;

1^{cc} de lessive de soude à 10 % ;

Gros comme un pois de s. n. de bismuth.

On obtient un précipité noir de bismuth métallique s'il y a du sucre.

Nylander (2) a donné la formule suivante.

2^{gr} de s. n. de bismuth ;

4^{gr} de sel de Seignette ;

100^{cc} de lessive de soude à 8 %.

Knapp, Sachsse ont publié des formules à base de mercure que nous relatons plus loin.

Les solutions de cuivre et de mercure ont seules été utilisées pour les déterminations quantitatives. Celles à base de cuivre sont de beaucoup les plus

(1) *Journ. f. praktische Ch.* t. LXX, p. 432.

(2) *D. ch. Ges.* t. XVII p. 232.

commodes et les plus employées. Pourtant celles où l'on emploie le mercure possèdent des propriétés spéciales qui les rendraient précieuses si on pouvait en faciliter l'emploi.

C'est ce que nous essaierons dans la suite.

DIVERSES FORMULES DE LIQUEUR DE FEHLING

Fehling qui fit une bonne étude des solutions cupro-alkalines donna la formule suivante :

Sulfate de cuivre crist.	40 ^{gr} ;
Tartrate neutre de potasse . . .	160 ^{gr} ;
Lessive de soude de D = 1,12 .	600-700 ^{cc}
Eau (p. faire 1154 ^{cc}	Q. S.

formule que Bödecker transforma en la suivante pour la rendre plus commode :

Sulfate de cuivre	34 ^{gr} 65;
Sel de Seignette	173 ^{gr} ;
Lessive de soude de D = 1,14.	480 ^{cc} (67 ^{gr} 32 de NaOH);
Eau (p. un litre)	Q. S.

Cette liqueur de Fehling est altérable. Pasteur préconisa une solution qu'il croyait à l'abri de ce reproche et qui est en effet peu altérable :

Sulfate de cuivre . . .	34 ^{gr} 639
Acide tartrique	92 ^{gr}
Potasse caustique . . .	70 ^{gr}
Soude caustique	115 ^{gr}
Eau (p. 1000 ^{cc}).. . . .	Q. S.

Rodewald et Tollens, Soxhlet, Allihn emploient une liqueur formée de deux solutions que l'on conserve séparément. La solution bleue contient pour 500^{cc} 34^{gr} 639 de sulfate de cuivre (34^{gr} 600, Allihn). La solution blanche a la composition suivante :

Rodewald et Tollens :	173 ^{gr} de sel de Seignette, 60 ^{gr} de soude caustique, pour 500 ^{cc} .
Soxhlet :	173 ^{gr} de sel de Seignette, 51 ^{gr} de soude caustique, pour 500 ^{cc} .
Allihn :	173 ^{gr} de sel de Seignette, 125 ^{gr} de potasse caustique, pour 500 ^{cc} .

Ces formules diffèrent principalement par la proportion d'alcali. Celle d'Allihn contient de la potasse au lieu de soude, circonstance qu'il ne faut pas oublier si on en fait usage, notamment par pesée parce qu'elle donne des résultats différents.

Dans la liqueur de Löwe qui est plus riche en cuivre, l'ac. tartrique est remplacé par de la glycérine; elle contient.

15^{gr} d'hydrate cuivrique,
60^{gr} de Glycérine,
84^{cc} de l'essive de soude de D = 1,34,
Q. S. d'eau pour 500^{cc}

D'après Soxhlet, elle est moins facile à conserver que ne le dit Löwe; elle précipite un peu plus de cuivre que la liqueur de Fehling.

Toutes ces formules sont bonnes si on les emploie après titrage au moyen d'un sucre pur ; si on s'en sert pour le dosage pondéral, il faut pour chacune d'elles suivre rigoureusement les indications de l'auteur.

Toutes sont basées sur l'hypothèse émise par Fehling, mais reconnue inexacte depuis, qu'une molécule de glucose réduit 5 molécules d'oxyde de cuivre. Cette proposition sensiblement vraie (à 1 p. $\frac{1}{2}$ près) si on se met dans les conditions exactes indiquées par Fehling cesse de l'être dès qu'on change la concentration et même suivant le mode opératoire, mais surtout si on opère par pesée.

Cet avantage théorique étant illusoire, nous avons dans nos essais modifié un peu la teneur en cuivre de cette solution ; nous mettons 35^{gr} de sulfate de cuivre par litre, et comme nous recueillons et pesons l'oxydure Cu_2O , nous en obtenons exactement 1^{gr} pour 100^{cc} de liqueur.

La méthode pondérale est peu employée en France ; par contre, la méthode volumétrique est d'un usage constant.

On n'en tire généralement pas tout ce qu'elle peut donner, notamment dans les examens de chimie clinique ; cela tient à l'inutilité d'obtenir des résultats d'une grande précision dans la plupart des cas ; qu'importe en effet au praticien que tel malade élimine 40 ou 42^{gr} de sucre par jour ? Les variations journalières sont bien plus considérables et un si faible écart ne saurait troubler en quoi que ce soit, ni le traitement ni le pronostic.

Dans l'industrie où des intérêts considérables en peuvent dépendre, on s'applique à resserrer davantage les limites de l'erreur possible ; on conçoit par exemple, qu'il ne soit pas indifférent à un industriel de payer 40,000 ou 42,000 kilogs de sucre.

UTILITÉ DE LA DÉTERMINATION PRÉCISE
DU POUVOIR RÉDUCTEUR

En clinique même, il est des cas où il serait du plus grand intérêt de pouvoir déterminer avec une grande précision le pouvoir réducteur d'un liquide. Lorsque, en effet, on se trouve en présence d'une solution pouvant contenir à côté de glucose une proportion inconnue d'un autre sucre réducteur, lactose par exemple, on pourra combiner les examens par réduction et par polarisation, l'examen optique devant donner théoriquement un résultat un peu supérieur à ce que donnerait une solution de glucose également réductrice.

Mais si cette quantité de lactose est faible, et même en admettant un examen polarimétrique d'une exactitude absolue, que pourrons nous tirer de la réduction ?

S'il y a, je suppose, 10 grammes de glucose et un gramme de lactose par litre, le pouvoir rotatoire étant sensiblement le même pour les deux sucres, la déviation sera celle de 11 grammes de glucose ; le pouvoir réducteur du sucre de lait étant environ 0,7 de celui du glucose, la réduction indiquera 10^{gr}7 de glucose.

Que pouvons nous conclure de ces deux essais ?

Absolument rien ! l'écart de 10,7 à 11 n'excédant pas les erreurs que l'on peut commettre dans la méthode usuelle.

Si poussant plus loin les investigations, nous dédoublons le lactose par une action convenable des acides, le calcul montre que le pouvoir rotatoire augmentera légèrement et accusera environ 11^{er}3 de glucose. Le pouvoir réducteur s'élèvera également et égalera celui de 10^{er}96 de glucose. Ici encore nous ne pouvons rien conclure, nos méthodes manquant de précision.

En effet, d'après ce que nous avons dit plus haut de la sensibilité du polarimètre, cet instrument ne pourra nous être ici d'aucun secours. Voyons ce que nous donnerait le simple examen par réduction.

Nous avons un pouvoir réducteur égal à

10,70 dans le premier cas,

10,96 dans le second ;

la différence (environ 2,5 %) est inférieure aux erreurs d'expérience possibles.

Pourtant si, modifiant convenablement notre technique, nous pouvions obtenir des résultats sûrs à 1 % en plus ou en moins, la valeur trouvée serait comprise entre les limites de

$$10,96 \pm 0,11$$

soit entre 10,85 et 11,07.

L'augmentation comprise entre 0,15 et 0,37 au lieu

de 0,26 accuserait une quantité de lactose comprise entre

$$\frac{0.15}{0.26} = 0.58 \text{ et } \frac{0.37}{0.26} = 1.42$$

Bien que cette prétention d'atteindre sûrement le but à 1 % près n'ait rien d'exagéré, il nous faudra déjà prendre quelques précautions.

Pour ne pas nous exposer à changer le titre de la solution ou les conditions de l'expérience par des manipulations, voici comment nous pourrions procéder :

La solution sera additionnée de XX gouttes d'acide chlorhydrique pour 100^{cc} ; une partie servira telle quelle pour un premier essai ; une autre partie sera renfermée en tube scellé et chauffée 2 heures à 110°, soit à l'autoclave, soit dans un bain convenable celui dont nous nous servirons plus loin pour chauffer la liqueur de Fehling). Dans ces conditions, le lactose sera hydrolysé ; les produits résultants de même que le glucose préexistant ne seront pas sensiblement attaqués et après refroidissement nous ferons une nouvelle détermination. Elle sera dans des conditions très analogues à la première et avec une concentration qui n'aura pu varier.

Cet exemple est un de ceux que l'on rencontre dans la pratique et nous aurions pu en choisir d'autres tout différents ; la conclusion sera toujours la même : pour obtenir des résultats probants, il faut opérer suivant des méthodes précises.

Nous verrons plus loin le parti que l'on peut tirer des solutions de mercure.

CONSIDÉRATIONS

SUR LA DESTRUCTION MICROBIENNE DES SUCRES

Dans une série de recherches où sur les bienveillants conseils de Monsieur le Professeur agrégé Achard, nous comparions l'action destructive de divers microbes sur quelques sucres, nous avons souvent eu l'occasion d'examiner de tels mélanges et nous avons vite reconnu combien nos résultats offriraient peu de certitude tant que nous ne serions pas en possession d'une méthode de dosage rigoureuse en même temps que simple. Cette dernière qualité étant indispensable en raison du grand nombre de déterminations nécessaires.

C'est alors que nous avons essayé les diverses méthodes plus exactes données par un certain nombre d'auteurs, et que nous avons simplifié la méthode pondérale comme nous l'exposerons plus loin.

Dans le cours de ces recherches nous avons néanmoins pu constater quelques faits intéressants.

D'abord l'action du carbonate de chaux à 120° sur le pouvoir rotatoire des sucres réducteurs. Avec le glucose et le lactose, ce pouvoir rotatoire est abaissé d'environ 30%. Monsieur Grimbert a également observé ce phénomène.

En même temps la solution jaunit très sensiblement et ne permet guère un examen polarimétrique sans décoloration préalable ; il y a donc un commencement d'altération évident, mais pourtant le pouvoir réducteur n'est pas sensiblement affecté.

Nous avons également constaté que plusieurs échantillons de bouillon sucré, stérilisé et contenant du carbonate de chaux, ensemencés d'une façon identique ne sont pas toujours attaqués avec la même intensité ; un petit écart au début de la réaction allant souvent en s'accroissant. Aussi en sommes nous arrivé à faire une série d'essais avec le même ballon qui doit contenir suffisamment de bouillon ; nous évitons en même temps l'altération causée par le carbonate de chaux.

Le bouillon sucré neutre est d'abord stérilisé isolément ; après refroidissement on y ajoute d'une façon aseptique le carbonate de chaux contenu dans de petits tubes à essais et stérilisé lui-même par un long séjour à l'étuve à 170° (nous l'y laissons 24 heures).

Un ballon à fond plat assez grand, de 250^{cc} par exemple, reçoit 100^{cc} d'un mélange à volumes égaux de bouillon et de solution sucrée à 10 %, puis 5^{gr} de carbonate de chaux, le tout stérile, ce qui est facile à vérifier.

Il est ensemencé, pesé et mis à l'étuve à 37°.

De temps en temps, soit toutes les 6 heures, on fait un prélèvement aseptique de quelques centimètres cubes, par les méthodes habituelles de la bactériologie, puis le ballon est bien agité et remis à l'étuve.

La perte de liquide par évaporation à l'étuve est notable ; on la détermine par deux pesées du ballon entre chaque prélèvement et on corrige les résultats en conséquence.

Pour faire un dosage sur le liquide prélevé, nous ne faisons pas de dilution, mais nous en mesurons

aussi exactement que possible un faible volume, 1, 2, 5^{cc} par exemple.

Pour rendre cette prise d'essai très précise, nous avons été amené à fabriquer les pipettes exactes décrites ci-dessus (page 23).

D'ailleurs il est d'autres cas où ces mensurations de petits volumes sont avantageuses ; lorsque par exemple, on fait des prélèvements fréquents d'urine. Aussi les avons nous adoptées d'une façon générale et nous n'en obtenons pas moins des résultats très précis.

MÉTHODE USUELLE DE DOSAGE
PAR LA LIQUEUR DE FEHLING

Voici ce que disent, après Fehling, à peu près tous les auteurs.

Dans un récipient convenable, matras, capsule, verre de Bohême, mettre 10^{cc} de liqueur de Fehling titrée et 20, 30, 40^{cc} d'eau (Fehling disait 40); chauffer à l'ébullition, puis ajouter goutte à goutte et sans interrompre l'ébullition la solution sucrée qui, à la suite d'un essai préliminaire, aura été amenée à une teneur en sucre comprise entre 5 et 10 p. 1000.

Lorsqu'on approche de la fin de l'opération, l'oxyde rouge qui s'est précipité prend de la cohésion et se rassemble au fond du vase pendant que la liqueur surnageante se décolore graduellement. L'opération est terminée lorsque celle-ci est devenue complètement incolore, ce dont on s'assure soit en mettant le vase sur une feuille de papier blanc, soit en regardant par transparence vers une fenêtre. Si on se sert d'une capsule de porcelaine, la coloration bleue ressort bien sur les parois de la capsule.

Quelques auteurs recommandent de s'assurer de la fin de la réaction en touchant avec une goutte de la solution essayée, soit une goutte de sulphydrate d'ammoniaque, soit ce qui vaut mieux, une goutte de solution de ferrocyanure de potassium.

Enfin, quelquefois on conseille d'épuiser l'action

réductrice de la solution sucrée après chaque affusion, avant d'en remettre d'autre ; procédé qui peut avoir ses avantages lorsqu'on opère avec des liquides complexes et que la réduction se fait mal, mais procédé tout à fait propre à donner des résultats inexacts, la quantité de sucre nécessaire dans ces conditions étant notablement réduite.

CRITIQUE DE LA MÉTHODE

Cette méthode est-elle à l'abri de tout reproche ? Non, assurément !

D'abord il n'est pas indifférent de diluer la liqueur de Fehling avec 2, 3 ou 4 volumes d'eau. Soxhlet a trouvé les nombres suivants avec sa liqueur de Fehling et du glucose pur en solution à 1 %.

100 ^{cc}	de l. de Fehlg. n.	diluée	=	0.4750	de glucose
100	—	+ 1 v. d'eau	=	0.4825	—
100	—	+ 2 —	=	0.4880	—
100	—	+ 3 —	=	0.4920	—
100	—	+ 4 —	=	0.4940	—

L'écart entre les résultats des deux dilutions avec 2 volumes ou avec 4 volumes d'eau atteint 1.20 %.

La façon de verser la solution sucrée a aussi son importance ; les premières parties agissant sur un grand excès de liqueur de Fehling réduisent beaucoup plus de cuivre (jusqu'à 30 % en plus) ; à mesure que l'opération s'avance, ce pouvoir réducteur s'abaisse et

ne redevient normal que pour les dernières portions ajoutées.

Il en résulte qu'il faut d'autant plus de solution sucrée qu'on va plus vite.

L'appréciation du terme de la réaction apporte aussi sa part d'incertitude ; il n'est pas tellement net, en effet, qu'on ne soit contraint d'hésiter quelques instants et pendant ces tâtonnements, il est bien rare que l'ébullition ne s'arrête à plusieurs reprises ; l'air appelé dans le matras par la condensation de la vapeur va oxyder une partie du cuivre et occasionne une erreur en trop.

Mais, dira-t-on, ces erreurs de sens différent se compensent en partie, et d'ailleurs en opérant dans des conditions identiques, on obtiendra des résultats comparables.

Sans doute et c'est fort heureux, sinon un dosage ainsi fait ne signifierait plus rien ; mais les conditions ne sont qu'analogues et non identiques. Qu'on fasse plusieurs fois de suite le même dosage, on trouvera des différences pouvant atteindre 3, 4 et 5 %, surtout si on laisse quelque temps d'intervalle entre chaque opération.

Le volume de liqueur de Fehling est aussi un peu faible ; en employant une solution de glucose à 1 % il en faut environ 5^{cc}, volume sur lequel une petite erreur de lecture devient importante.

Il nous reste à signaler une cause d'erreur systématique que l'on trouve encore dans des ouvrages classique ; c'est celle qui consiste à remplacer dans un

titrage le glucose par son poids de sucre inverti ; or il est bien établi que ce dernier a un pouvoir réducteur plus faible. Soxhlet dans ses expériences si précises a trouvé avec sa liqueur une différence de 4 %.

Il est surtout important de se garder de cette confusion lorsqu'on veut comparer les résultats de la réduction et de la polarisation. Si donc on veut employer le sucre inverti qu'il est plus facile de se procurer pur que le glucose, il faudra mettre en saccharose 99 % du poids de ce dernier et non 95 seulement.

On a cherché à rendre plus commode l'emploi de la liqueur de Fehling en empêchant la précipitation de l'oxyde cuivreux soit par l'ammoniaque, soit par le ferrocyanure de potassium.

Ce dernier procédé indiqué par Causse (1) consiste à ajouter à 10^{cc} de liqueur de Fehling 0^{gr} 20 de ferrocyanure de potassium en solution. Il est assez employé dans les laboratoires de médecine et justifie cette faveur par sa commodité ; l'opération est terminée lorsque la coloration qui diminue graduellement passe au jaune pâle franc ; on peut construire un étalon artificiel avec une solution de ferrocyanure par exemple. Le terme est assez net pour que l'hésitation ne soit permise que sur deux ou trois gouttes. Il faut avoir soin d'opérer dans des conditions le mieux déterminées possibles, l'influence de la durée de l'ébullition se faisant sentir peut-être plus nettement.

(1) *Bulletin Soc. ch. de Paris*, 2^e série, t. L p. 625.

INSUFFISANCE DE LA MÉTHODE

La méthode usuelle pouvant donner lieu à des erreurs atteignant jusqu'à 5 % ne pourra nous donner les renseignements que nous lui demandons.

Si on admet que le polarimètre puisse donner une approximation absolue de 0.^{gr} 50 de glucose par litre, que la liqueur de Fehling puisse donner une approximation relative de 5 %, la sensibilité des deux méthodes sera la même lorsqu'il y aura 10.^{gr} de glucose par litre : au delà le polarimètre l'emportera en précision ; en deçà, au contraire, la liqueur de Fehling sera plus avantageuse. Pour un autre sucre, ce chiffre doit être modifié.

Dans la méthode volumétrique de Soxhlet que nous exposons plus loin, les écarts ne dépassent guère 0,2 %.

Tollens en la simplifiant quelque peu atteint sensiblement la même précision.

La méthode pondérale pratiquée par divers auteurs dont nous donnons la technique et les tables est peut-être un peu moins précise ; l'écart peut atteindre 0,5 %.

La méthode pondérale que nous proposons est tout aussi précise que cette dernière ; elle est en même temps d'une grande simplicité.

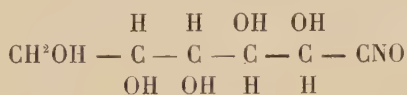
CHAPITRE III

QUELQUES PROPRIÉTÉS ANALYTIQUES DES SUCRES

I. — GLUCOSE

Le glucose-*d* ou dextrose-*d* dont la formule est $C^6H^{12}O^6$ ou $C^6H^{12}O^6 + H^2O$ suivant qu'il est anhydre ou hydraté a, en raison de ses origines, aussi été nommé sucre de raisin, sucre de diabète, sucre de chiffons, etc ; c'est certainement le plus important au point de vue qui nous occupe. C'est de tous les sucres usuels celui dont le pouvoir réducteur pour la liqueur de Fehling est le plus considérable.

Fischer qui l'a obtenu par synthèse donne au sucre anhydre la formule stéréochimique suivante :



Le glucose se présente dans le commerce soit sous forme d'un sirop épais, soit sous forme d'une poudre blanche.

Le glucose dit pur, contient généralement, outre une certaine proportion d'eau, une notable quantité d'impuretés variables avec son origine, (lévulose maltose, dextrines, sulfate de chaux, etc.

Le maltose et les dextrines possédant un pouvoir rotatoire considérable peuvent, à ce point de vue, compenser d'autres impuretés et faire croire par un simple examen polarimétrique à une pureté beaucoup plus grande qu'elle n'est en réalité.

Ces impuretés, au contraire, ne sont pas réductrices ou le sont moins que le glucose. L'arabinose fait exception mais il ne saurait s'y rencontrer accidentellement, de sorte que la détermination précise du pouvoir réducteur est pour le glucose un bon moyen de contrôler sa pureté.

Il est assez facile de le faire cristalliser, mais il retient volontiers une certaine proportion de matières étrangères qu'il perd progressivement par des cristallisations répétées. Lorsqu'il est pur, sa solution dans l'eau, si concentrée soit-elle, est toujours parfaitement incolore.

Soxhlet (1) qui dans ses recherches a dû en préparer de grandes quantités a constaté que par cristallisation dans l'acool absolu, on n'obtient que des rendements insignifiants ; que d'autre part, les méthodes où le glucose se sépare d'abord sous forme d'un sirop durcissant ultérieurement sont mauvaises ; c'est le cas des solutions alcooliques saturées à chaud ou des solutions alcooliques qu'on précipite par l'éther.

Il constata, le premier, croyons-nous, que le pou-

(1) Nous donnons sous la rubrique « propriétés analytiques des sucres » quelques modes de préparation de produits purs, destinés à servir d'étalon pour titrer les liqueurs ou pour dresser des tables.

voir réducteur du glucose est plus élevé que celui du sucre inverti et cela dans la proportion d'environ 4 0/0.

Voici comment il prépare un produit pur :

« Pour obtenir un kilog de dextrose anhydre, on en prépare d'abord une petite quantité.

« A 500^{cc} d'alcool à 90° et 20^{cc} d'acide chlorhydrique fumant mélangés et chauffés à 45°, on ajoute en 4 ou 5 fois et en agitant constamment 160^{gr} de sucre de canne pulvérisé pur. Au bout de 2 heures d'agitation soutenue, la masse est dissoute et hydrolysée. Après 6 à 8 jours de repos, le glucose cristallise le premier.

« Dès que cette cristallisation est commencée on agite souvent et fortement dans la journée. Au bout de 1 ou 2 jours on obtient une quantité considérable de dextrose en fine poussière ; le liquide lui-même est devenu faiblement jaune. Les cristaux anhydres obtenus servent à amorcer la cristallisation dans la préparation définitive suivante. On peut naturellement employer pour cela un glucose cristallisé auhydre préparé d'une façon quelconque ; mais celui qu'on obtient par dessiccation du glucose hydraté ne convient pas.

« On chauffe au bain-marie dans une grande éprouvette de verre un mélange de 12 litres d'alcool à 90° et de 480^{cc} d'acide chlorhydrique fumant ; on porte à la température de 45° et en tous cas pas au dessus de 50°. On ajoute en agitant et par petites portions 4 kilogs de sucre raffiné pulvérisé. Après 2 heures tout est dissous et inverti et le liquide est resté presque incolore.

« Après refroidissement on y ajoute les cristaux obtenus ci-dessus, puis on agite avec force et aussi souvent que possible.

« La précipitation du glucose sous la forme d'une fine poudre blanche commence après quelques heures et au bout de 12 heures il y en a environ 70 à 80 % de cristallisé ; on abandonne le produit à lui même pendant 24 heures.

« Le liquide est séparé par aspiration et le résidu est lavé à l'alcool tant que ce dernier présente les réactions de l'acide chlorhydrique ; finalement on lave à l'alcool absolu et on sèche le sucre à une douce chaleur.

« Cette préparation repose comme on le voit sur l'hydrolyse du saccharose avec formation de lévulose et de glucose ; ce dernier se trouve en solution sursaturée et se sépare.

« Mais ce glucose n'est pas encore pur et il n'y avait alors qu'un moyen de le purifier, la recristallisation dans l'alcool absolu, moyen qui, nous l'avons dit, donne des rendements déplorables.

« Nous avons trouvé dans l'alcool méthylique un dissolvant précieux pour obtenir rapidement un produit pur.

« L'alcool méthylique du commerce est purifié ainsi : on y ajoute 20 % d'eau et on distille en recueillant les $\frac{4}{5}$ du volume employé. On obtient ainsi un produit de densité voisine de 0.810 à 20° qui convient pour obtenir une cristallisation troublée rapide du glucose.

« On chauffe le sucre obtenu plus haut pendant

à 10 minutes avec l'alcool méthylique ci-dessus et on refroidit rapidement. La solution se trouble par la formation d'aiguilles cristallines de dextrose sans stade de séparation sirupeuse ; au bout de 24 heures la cristallisation est à peu près complète. Le produit est lavé à l'alcool méthylique et on répète le traitement ci-dessus jusqu'à ce que le glucose en solution concentrée donne un sirop très limpide et complètement incolore.

« Si on veut obtenir plus lentement des croûtes bien cristallisées, on mélange à l'alcool méthylique environ 20 % d'eau ($D = 0,825$) ; on y ajoute un excès du dextrose précédemment obtenu et on chauffe pendant 10 à 15 minutes. On filtre et on laisse au repos dans un ballon pendant 5 ou 6 semaines. On obtient ainsi une couche de cristaux durs et brillants. »

Nous avons procédé un peu différemment pour la préparation de notre glucose pur et nous avons également obtenu de très bons résultats.

Du glucose pur du commerce est dissous au bain marie dans 1/5 de son poids d'eau. Le sirop coloré ainsi obtenu est additionné d'alcool méthylique pur dans la proportion de 100^{cc} pour 100^{gr} de glucose. Il convient de chauffer un peu au préalable cet alcool méthylique au bain-marie. La solution est rapidement filtrée et portée dans une glacière ; elle est agitée fréquemment dans la journée et en un ou deux jours elle se prend en une bouillie cristalline qui est essorée à la trompe et lavée à l'alcool méthylique.

Ce traitement est répété 4 ou 5 fois. Le glucose pur

obtenu est d'abord séché à l'air puis pendant 12 heures à 100° et refroidi dans un exsiccateur (Vérifier que l'étuve ne donne pas une température supérieure pouvant jaunir le produit).

On obtient facilement ainsi un produit bien cristallisé donnant des solutions très limpides et tout-à-fait incolores.

Le glucose peut être préparé à partir de l'amidon (1) du miel, du suc de raisin, etc.

Le glucose est le type des sucres fermentescibles et réducteurs.

Son pouvoir rotatoire varie peu avec la température ou la concentration ; il est donné par la formule (sucre anhydre) :

$$[\alpha]_D = 52,50 + 0,0188 p + 0,000517 p^2$$

p est la teneur en grammes de 100^{gr} de solution.

Cristallisé le glucose peut exister sous 3 formes α , β , γ , (Tanret) (2) dont le pouvoir rotatoire est différent.

En solution la forme β est seule stable et c'est d'elle qu'il s'agit dans la formule ci-dessus.

Cette transformation des variétés α et γ dans la variété β est assez lente à froid ; elle est rapide sous l'influence de la potasse et surtout de l'ammoniaque ou bien encore sous l'influence de l'ébullition. Une solution faite à froid ne doit pas, pour un dosage, être examinée au polarimètre avant 24 heures.

(1) Jungfleisch (Manipul. de chimie Paris 1893).

(2) (C. R. Ac. Sc. t. CXX p. 1060).

Le pouvoir réducteur du glucose est important à déterminer puisque c'est à lui que l'on rapporte celui des autres sucres.

Soxhlet en employant du glucose pur et sa liqueur de Fehling a trouvé les nombres suivants :

50^{cc} de solution à 1 % soit 0^g50 de sucre réduisent :

103^{cc}2 de liq. de Fehling non étendue.

103^{cc}7 — étendue de 1 volume d'eau.

102^{cc}4 — — 2 —

101^{cc}5 — — 3 —

101^{cc}1 — — 4 —

100^{cc} de solution à 1/2 % soit 0^g50 de sucre réduisent :

104^{cc}0 de liq. de Fehling non étendue.

101^{cc} — étendue de 4 volume d'eau.

En employant une quantité constante de liqueur de Fehling il trouva :

					glucose en solution à 1 p. 100
100 ^{cc} de l. de Fehl. n. diluée	=				0 ^g 4750
100 —	+	1 v. d'eau	=		0.4825
100 —	+	2 —	=		0.4880
100 —	+	3 —	=		0.4920
100 —	+	4 —	=		0.4940
					glucose en solution à 1/2 p. 100
100 ^{cc} de l. de Fehl. n. diluée	=				0 ^g 4785
100 —	+	4 v. d'eau	=		0.4945

Une ébullition de 2 minutes de durée est suffisante pour que la réduction soit complète.

II. — LE GALACTOSE

Le galactose à l'état de combinaison est très répandu dans la nature. On l'extrait du sucre de lait que l'on dédouble par une ébullition prolongée avec les acides.

Voici le procédé suivi par Soxhlet (1) pour obtenir un produit pur utilisable pour des déterminations analytiques.

Un kilogramme de lactose fut mis à bouillir pendant 6 heures avec 4 litres d'acide sulfurique à 5 %.

Après refroidissement, le liquide brun clair obtenu fut saturé aussi exactement que possible par de la baryte caustique.

Vers la fin de la saturation le filtrat encore un peu acide contenait déjà de la baryte. Elle était dissoute à la faveur d'un acide formé par l'acide sulfurique sur le lactose, acide que Rodewald (2) a reconnu être de l'acide lévulinique.

La solution débarrassée par filtration du sulfate de baryte, évaporée à consistance de sirop et mise à cristalliser ne donna rien en 6 semaines. Soxhlet employa l'artifice suivant : une petite quantité de sirop triturée avec un peu de glucose hydraté se coagula en en une pâte ferme en deux jours. Cette pâte ajoutée à

(1) (*Loc. cit.*).

(2) (*In. Dissert. Göttingen 1879*).

la masse principale du sirop y détermina en quelques jours la formation d'une masse pâteuse jaune.

On pourrait croire que c'est le glucose qui a ainsi cristallisé : il n'en est rien, les cristaux étaient constitués exclusivement par du galactose.

La masse pâteuse obtenue fut délayée avec de l'alcool à 80° et amenée à consistance de crème. Le tout jeté sur une toile laissa s'écouler goutte à goutte un sirop épais de couleur brun sombre dont les dernières parties furent séparées par expression.

Le gâteau comprimé ainsi obtenu fut de nouveau délayé dans l'alcool à 80° et traité comme ci-dessus.

Les cristaux sont très difficilement solubles dans l'alcool alors que le sirop brun s'y dissout aisément.

Après 4 lavages, l'alcool s'écoulait complètement incolore et le gâteau exprimé était presque blanc de neige.

L'alcool ayant servi aux lavages fut abandonné au repos mais ne présentait pas trace de cristallisation au bout de plusieurs mois.

Le galactose obtenu n'étant pas encore pur, Soxhlet employa les deux procédés suivants qui lui donnèrent de bons résultats :

a la recristallisation dans l'alcool à 70.

b la recristallisation dans l'alcool méthylique aqueux.

a On ajoute à l'alcool chauffé du galactose pulvérisé jusqu'à saturation, on filtre et on abandonne la solution au repos. On obtient en quelque jours des cristaux agglomérés en croûtes (prismes avec dôme).

b On dissout au bain-marie 100° de galactose dans 100-120^{cc} d'eau ; on ajoute à la solution 350^{cc} d'alcool méthylique, on fait bouillir et on filtre. La précipitation a lieu aussitôt après le refroidissement sous forme de fines aiguilles ; on accélère cette précipitation par de fréquentes agitations.

On n'obtient pas ainsi de beaux cristaux, mais le procédé est très commode pour avoir une cristallisation rapide.

Les produits obtenus après trois recristallisations successives par l'un ou l'autre de ces procédés étaient complètement purs et donnèrent les mêmes résultats.

Le galactose ne donne pas d'hydrate stable à froid en présence de l'acide sulfurique.

Sa caractéristique est la facilité avec laquelle il cristallise de ses solutions chaudes saturées ; le sirop clair jeté sur un filtre s'y prend déjà en une bouillie cristalline.

Son pouvoir réducteur est plus faible que celui du glucose et à peu près égal à celui du lévulose. Soxhlet trouva :

100^{cc} de liq. de Fehling non étendue = 0^{er}511 gal. en sol. à 1 °/o.

100 — + 4 v. d'eau = 0 533 —

Comme pour le glucose, la réduction est complète après 2 minutes d'ébullition.

Il présente le phénomène de la birotation.

(1) Lieb. ann. t. CCLVII p. 130.

Son pouvoir rotatoire fixé est donné par la formule

$$[\alpha]_D = 83^{\circ},883 + 0,0785 p - 0,209 t$$

Meissl a trouvé en solution à 10 % et à 15°.

$$[\alpha]_D = 81^{\circ},53$$

Parcus et Tollens (1) pour la rotation initiale ;

$$[\alpha]_D = 117^{\circ},2$$

Il est plus facilement que le glucose détruit par une longue ébullition avec l'acide chlorhydrique, mais moins facilement que le lévulose. Il se forme de l'acide lévulinique et la solution se colore en brun.

Oxydé par l'acide azotique, il ne donne pas d'acide saccharique, mais de l'acide mucique et en donne deux fois plus qu'un poids égal de lactose.

Chauffé avec de la phénylhydrazine il donne de la galactosazone qui fond à 193° (Fischer,) à 184-186° (Tollens).

Il peut fermenter sous l'action de la levûre de bière, surtout par entraînement et s'il est accompagné de glucose ou de maltose (Bourquelot).

Il ne fermente pas par le *Sacch. apiculatus* (Voit).

III. — LÉVULOSE

Le *d*-lévulose, *d*-fructose, sucre de fruit, appelé encore mais à tort, sucre incristallisable existe en combinaison dans le saccharose, le raffinose, l'inuline, etc.

C'est le seul sucre usuel à fonction cétonique ; il ne

saurait donc donner par oxydation, un acide analogue à l'acide gluconique. Pour la même raison il ne donne ni acide saccharique ni acide mucique.

Il est difficile à préparer pur ; aussi un grand nombre de ses propriétés ont elles été déduites de celles du glucose et du sucre inverti.

MM. Jungfleisch et Lefranc (1) ont pourtant réussi à le faire cristalliser et à l'obtenir dans un état de pureté absolue. On trouvera dans les « *Manipulation de chimie* » de M. Jungfleisch (2) la technique de cette préparation délicate.

Au point de vue analytique, il se distingue nettement des autres sucres dont nous nous occupons par son pouvoir rotatoire lévogyre.

Ce pouvoir rotatoire qui varie beaucoup suivant la concentration de la solution est donné par la formule

$$[\alpha]_D = - [101.38 - 0.56t + 0.108 (p-10)]$$

où t est la température et p la proportion %.

Son pouvoir réducteur est sensiblement égal à celui du galactose ; la réduction est de même complète au bout de 2 minutes.

Il est très altérable par les agents chimiques ; ses solutions chauffées avec de l'acide chlorhydrique se colorent et donnent rapidement de l'acide lévulinique.

Sélimanoff a donné la réaction colorée suivante : on chauffe un granule de lévulose ou d'un corps qui puisse

(1) C. R. Ac. Sc. t. XCIII p, 547.

(2) Jungfleisch (Manipul. Ch. Paris 1893).

l'engendrer (saccharose, raffinose) avec un peu de résorcine et 5^{cc} d'acide chlorhydrique au tiers ou au quart ; il se produit une coloration rouge feu, mais non rouge cerise (1).

Il donne avec la chaux une combinaison peu soluble dans l'eau.

Il précipite notablement par le sous acétate de plomb et l'ammoniaque.

Avec la phénylhydrazine il donne à chaud de la glucosazone.

Il fermente bien quoique un peu moins vite que le glucose.

IV. — SACCHAROSE

Le saccharose est très répandu dans la nature.

Le sucre raffiné tel que le livre l'industrie est du saccharose sensiblement pur (à 1/2 millième près). Il peut donc servir tel quel à toutes les déterminations analytiques ; il suffit de le dessécher à l'étuve.

Il est facile de caractériser le saccharose dans un mélange en raison des modifications profondes apportées à ses propriétés par l'hydrolyse (inversion ou interversion).

Le pouvoir rotatoire du saccharose est assez constant et égal à 66°5 pour une concentration ne dépassant pas 10 %.

(1) V. Tollens et Bourgeois (*loc. cit.*)

Pour une concentration plus forte on peut utiliser la formule

$$[\alpha]_D = 66^\circ 386 + 0.015035 p - 0,0003936 p^2$$

Après inversion ce pouvoir rotatoire change de signe et la valeur absolue en est plus faible (environ 0.32 à 20°).

Le pouvoir rotatoire du sucre inverti varie un peu selon le procédé suivi pour l'inversion ; c'est que l'acide chlorhydrique peut altérer un peu le lévulose produit et que d'autre part le même acide influe sur le pouvoir rotatoire du mélange. Aussi dans les questions litigieuses doit-on suivre le procédé officiel.

Ce procédé consiste à ajouter à la solution de saccharose 10% de son volume d'acide chlorhydrique et à chauffer au bain marie 10 minutes à $67-69^\circ$. On obtient ainsi une solution tout à fait incolore.

Nicol (1) dissolvait 1825 de saccharose dans l'eau de manière à faire 200° , ajoutait X gouttes d'acide chlorhydrique de densité $1,11$ et chauffait $1/2$ h. à 100° , saturait par le carbonate de soude, et complétait 250° .

Soxhlet (2) dissout 955 de saccharose dans 700° d'eau chaude, ajoute 100° d'acide $H\ Cl \frac{N}{10}$, chauffe 30 minutes au bain-marie bouillant, sature exactement et complète 1 ou 2 litres.

Au point de vue de la réduction nous nous sommes bien trouvé du procédé suivant : la solution sucrée est

(1) Zeitsch. f. an. Ch. t. XIV p. 177.

(2) (*Loc. cit.*)

additionnée de XX gouttes d'acide H Cl pour 100^{cc} puis chauffée 5 minutes au bain d'une solution saline bouillant à 110° ; l'ébullition de la solution sucrée dure environ 2 minutes. Nous nous dispensons le plus souvent de saturer l'acide.

Pour doser optiquement le saccharose dans un mélange, on fait l'examen polarimétrique avant et après l'inversion ; la différence algébrique des deux déviations donne, au moyen des tables de Clerget la teneur en sucre.

Soxhlet a trouvé les résultats suivants pour le sucre inverti :

				sucres invertis en sol. à 1. p. 100
100 ^{cc} de l. de Fehling n. étendue				0 ^{gr} 494
100	—	+ 1 v. d'eau	=	0 503
100	—	+ 2 —	=	0 509
100	—	+ 3 —	=	0 514
100	—	+ 4 —	=	0 515
				s. inv. à 1/2 %
100	—	non diluée	=	0 497
100	—	+ 4 v. d'eau	=	0 5145

ou bien, avec une quantité constante de sucre : 0^{gr} 500 de sucre inverti en solution à 1 % réduisent :

101 ^{cc} 2 de liq. de Fehling non étendue			
99 5	—	étendue de 1 vol. d'eau.	
98 2	—	— 2 —	
97 3	—	— 3 —	
97 0	—	— 4 —	

0^{gr} 500 de sucre inverti en solution à 1/2 % réduisent.

100 ^{cc} 6 de liq. de Fehling non étendue.			
97 1	—	étendue de 4 vol. d'eau.	

Le saccharose n'est pas réducteur par lui-même ; mais si on fait le dosage pondéral d'un sucre réducteur dans une solution contenant du saccharose, ce dernier augmente la quantité de cuivre réduit. Meissl a donné des tables utilisables pour de tels mélanges.

Chauffé avec de la phénylhydrazine en solution acétique il donne au bout d'un certain temps de la glucosazone.

Il donne avec la chaux, la baryte et la strontiane des composés moins solubles à chaud qu'à froid. Sous l'action de la levûre de bière il fermente après avoir été dédoublé par l'invertine,

V. — LACTOSE

Le lactose est retiré principalement du lait.

Voici comment nous avons préparé du lactose pur pour les besoins de l'analyse.

Le lactose du commerce pouvant contenir quelques sels, chlorures, phosphates, est recristallisé dans l'eau pour l'en séparer ; c'est l'opération la plus longue. Les cristaux obtenus sont lavés à l'eau distillée froide et séchés.

Ce produit qui n'est pas encore pur est dissous au bain marie bouillant dans 1 1/2 fois son poids d'eau ; la solution est filtrée puis additionnée de son volume d'alcool méthylique.

La cristallisation commence aussitôt ; on l'active

par de fréquentes agitations. Le mélange est maintenu au frais, dans une glacière, par exemple, et en 24 heures la cristallisation est complète.

Les cristaux sont essorés à la trompe, lavés avec un mélange à volumes égaux d'eau et d'alcool méthylique et séchés.

Deux ou trois traitements semblables livrent un produit tout à fait pur.

Le lactose est réducteur, mais il agit plus lentement que le glucose; la réduction pour être totale demande 6-7 minutes d'ébullition.

Ce pouvoir réducteur est indépendant de la dilution des liqueurs. Soxhlet a trouvé que 100^{cc} de liqueur de Fehling diluée ou non sont réduits par 0^{gr}676 de lactose.

Il ne réduit pas sensiblement le réactif de Barfæld

Acétate neutre de cuivre	8 ^{gr}
Eau	120 ^{cc}
Ac. acétique à 38 %	3 ^{cc}

Il précipite notablement par le sous-acétate de plomb et l'ammoniaque, propriété mise à profit par Hofmeister pour le retirer de ses solutions étendues.

Rübner indique pour caractériser le lactose, le précipité rose qu'on obtient en faisant bouillir une solution de ce sucre avec un excès de sous-acétate de plomb et en y ajoutant de l'ammoniaque.

Le sous-acétate de plomb en grand excès abaisse très sensiblement le pouvoir rotatoire du lactose;

l'acide acétique ramène ce pouvoir rotatoire à sa valeur normale.

En solution récente le lactose présente la multirotation; le pouvoir rotatoire est fixé rapidement à l'ébullition et devient égal à

$$[\alpha]_D = 52.53$$

à la température de 20°.

Par l'action prolongée des acides, il se dédouble en glucose et galactose.

Nous le dédoublons en chauffant 2 heures à 110° ses solutions additionnées de XX gouttes d'acide chlorhydrique pour 100^{cc}

La solution équivaut donc à peu près à de l'acide décinormal.

Si la teneur en lactose est de 1 % la proportion de ce sucre qui est hydrolysée est d'environ 80 % au bout d'une heure et 90 % au bout de 1 heure 1/2.

D'après Fischer, l'émulsine a la propriété d'hydrolyser le lactose et non le saccharose.

Avec la phénylhydrazine il donne de la lactosazone qui fond vers 200° et qui est un peu soluble à chaud (1/80 environ).

Il ne fermente pas avec les levûres usuelles mais avec des levûres spéciales.

VI. — MALTOSE

Le maltose résulte de l'action du malt sur l'amidon ou la fécule.

Sa préparation à l'état pur est assez délicate. On trouvera dans Soxhlet (1) l'exposé d'une méthode donnant un produit irréprochable.

Le produit stable a pour formule,



Le sucre anhydre $C^{12}H^{22}O^{11}$ est presque aussi hygroscopique que le chlorure de calcium et se liquéfie à l'air en absorbant beaucoup plus d'eau que n'en comporte la formule du produit hydraté. Il perd progressivement ensuite cet excès d'eau par évaporation.

À l'encontre de ce que nous avons vu pour les autres sucres, la dilution élève le pouvoir réducteur du maltose.

			maltose en solution à 4 p. 100
100 ^{cc} de l. de Fehling non étendue	=	0 ^{gr} 7780	
100 — — — + 4 vol. d'eau	=	0 7400	
			maltose en solution à 1/2 p. 100
100 ^{cc} de l. de Fehling non étendue	=	0 7725	

La réduction demande 4 minutes d'ébullition pour être complète.

Son pouvoir rotatoire est

$$[\alpha]_D = 140^{\circ} 375 - 0,01837 p - 0,095t$$

Il est difficile à hydrolyser, mais pas plus que le lactose ; le procédé que nous donnons pour ce dernier peut lui être appliqué.

(1) Loc. cit.

La maltosazone qui comme la lactosazone est un peu soluble à chaud (1/80 environ) fond à 206°.

On sait que le maltose fermente directement.

CHAPITRE IV

MÉTHODES EXACTES

I. -- MÉTHODE VOLUMÉTRIQUE DE SOXHLET

Si un dosage volumétrique tel qu'on l'exécute habituellement laisse à désirer, il ne s'en suit pas que la méthode volumétrique soit à rejeter.

Elle devient au contraire susceptible d'une très grande exactitude si on la modifie convenablement.

Soxhlet l'a portée au plus degré de précision et pour fixer les équivalents analytiques des divers sucres effectua une très nombreuse série de déterminations où les erreurs ne dépassaient généralement pas 0,2 %.

Les résultats étant basés sur détermination d'un volume mesuré à la burette, il fallait pour atteindre cette certitude que ce volume fût assez considérable. Il employait généralement 100^{cc} de liqueur de Fehling et environ 50^{cc} de solution sucrée à 1 ou 1/2 % suivant la nature de ce sucre.

Après avoir constaté l'altérabilité de la liqueur de Fehling il se servit exclusivement des solutions séparées dont nous avons donné les formules plus haut.

Le sulfate de cuivre fut purifié par une première cristallisation dans l'acide azotique étendu, puis par trois autres cristallisations dans l'eau.

La solution alcaline de sel de Seignette était préparée chaque jour fraîchement.

Il jaugea lui-même ses pipettes au préalable et ses burettes furent vérifiées de 5 en 5^{cc} au moyen de la balance ; les résultats publiés ont été corrigés en conséquence,

TECHNIQUE D'UN DOSAGE VOLUMÉTRIQUE

100^{cc} de liqueur de Fehling, soit 50^{cc} de solution bleue et 50^{cc} de solution blanche sont suivant le cas additionnés ou non d'un certain volume d'eau, et portés à l'ébullition dans une capsule profonde.

A la liqueur bouillante on ajoute avec une pipette 50 ou 100^{cc} d'une solution sucrée à 1 ou 1/2 % (plus exactement à 1^{gr} ou 0^{gr} 5 p. 100^{cc}.) On maintient l'ébullition 2, 4 ou 6 minutes suivant la nature du sucre et on porte le tout sur un filtre plissé de grandeur suffisante.

Dès qu'on a recueilli une certaine quantité de filtrat et sans atteindre la fin de l'opération, on en sursature une partie par de l'acide acétique et on y cherche le cuivre au moyen du ferrocyanure de potassium. Ce réactif en présence du cuivre donne un précipité ou une coloration rouge brun suivant la quantité de ce métal.

Y a-t-il encore du cuivre ? c'est qu'il y avait trop de liqueur de Fehling et on recommence toute l'opération en en mettant un peu moins. On est jusqu'à un certain

point guidé par l'intensité de la réaction du cuivre.

Si dans un deuxième essai on ne trouve plus de ce métal, on peut craindre de n'avoir pas assez mis de liqueur de Fehling.

Dans un 3^e essai on en augmentera un peu la proportion et ainsi de suite jusqu'à ce que de deux essais ne différant que 0^{cc}1, l'un n'accuse plus le cuivre alors que l'autre en indique encore. On prend la moyenne que l'on considère comme l'expression exacte du volume nécessaire.

Il faut en général 5 ou 6 opérations pour arriver au résultat définitif.

Ces résultats furent contrôlés en mettant une quantité fixe de liqueur de Fehling et la quantité nécessaire de solution sucrée.

Le ferrocyanure de potassium comme indicateur du cuivre est à la fois très sensible et très sûr ; il indique nettement la réaction dans un liquide qui ne contient qu'un centim. c. de liqueur de Fehling pour 2 litres d'eau.

Le sulfhydrate d'ammoniaque ou l'hydrogène sulfuré employés par d'autres opérateurs sont notablement moins sensibles ; de plus la coloration décroît graduellement puis devient douteuse, si bien que le terme de la réaction n'est pas indiqué nettement.

Dans quelques cas, avec des liquides très colorés la réaction au ferrocyanure elle-même est peu sûre. Voici comment Soxhlet tourne la difficulté :

Le commencement de l'opération est celui qui a été décrit ; le liquide filtré où l'on a recherché le cuivre

est placé dans un vase de Bohême (Becherglas) avec quelques gouttes d'une solution sucrée réductrice ; on chauffe une minute à l'ébullition et on laisse reposer 3 ou 4 minutes ; on décante alors le liquide du Bécherglas et on frotte le fond de ce dernier avec un peu de papier à filtrer blanc eurolé sur un agitateur de verre.

Si, dans la première opération, il restait encore du cuivre, il aura été réduit par les quelques gouttes de solution sucrée et l'oxydure rassemblé au fond du vase rougira le papier à filtrer. Une plus grande quantité de cuivre serait déjà décelée par la présence d'oxyde cuivreux sur les parois.

Les dosages effectués dans ces conditions sont évidemment à l'abri de toute critique. Ils sont très propres à étudier d'une façon certaine le pouvoir réducteur des sucres.

Mais chaque détermination devient une opération sérieuse et longue ; si la méthode convient bien pour quelques essais isolés, elle devient pénible pour une série de recherches.

Aussi quelques auteurs opèrent-ils d'une façon un peu différente et sensiblement plus rapide.

M. Tollens (Tollens et Bourgeois *loc. cit.*) suit en général la méthode de Soxhlet mais opère sur 50^{cc} seulement de liqueur de Fehling (25^{cc} de chacune des solutions). Il ajoute la solution de glucose par portions, fait bouillir après chaque affusion et cela jusqu'à ce que la liqueur ne soit presque plus bleue ; il en filtre alors une partie, essaie au ferrocyanure et ajoute encore

du sucre jusqu'à ce que tout le cuivre soit précipité.

Lors du 2^e titrage, il verse d'un seul coup la quantité de solution sucrée employée la première fois moins 0^{cc}3 et achève comme précédemment.

Un 3^e titrage donne en général immédiatement le résultat définitif.

MM. Reischauer et Cruis (cités par Tollens) placent 5^{cc} de solution sucrée froide dans une série de verres à expériences, y ajoutent des quantités croissantes de liqueur de Fehling et chauffent tous les verres simultanément. On recherche dans lequel il y a eu le plus exactement précipitation de tout le cuivre sans excès de sucre réducteur.

Enfin pour éviter tous ces inévitables tâtonnements on est arrivé à employer les méthodes pondérales. Ces dernières, bien que plus compliquées n'en sont pas moins avantageuses surtout si on a plusieurs recherches à effectuer. En effet une seule opération donne un résultat exact et plusieurs dosages peuvent marcher de front.

Soxhlet appliqua sa méthode volumétrique aux sucres suivants : *glucose*, *sucres inverti*, *lactose*, *galactose*, *lactose hydrolysé* et *maltose*.

Il fit avec chacun d'eux un certain nombre d'essais en employant chaque fois 0^{gr}50 de sucre, soit 50^{cc} de solution à 1 %, ou quelquefois 100^{cc} de solution à 1/2 %.

Il mettait par conséquent une quantité variable de liqueur de Fehling non diluée ou, au contraire, étendue

de 1, 2, 3, 4 volumes d'eau. Il étudia ainsi l'influence de la concentration.

Il ne fut pas indifférent d'employer les solutions à 1 ou 0,5 %. Avec cette dernière dilution, la même quantité de sucre représentait en effet une augmentation de volume de 50^{cc}. Pourtant cette augmentation de volume était relativement peu considérable et ne se faisait plus sentir si la liqueur était déjà très étendue.

Soxhlet rechercha également l'influence d'un excès de liqueur de Fehling sur la quantité de cuivre réduit (influence qui ressort nettement des diverses tables que nous reproduisons).

Il constata que cette influence est la même pour le glucose, le sucre inverti et le lévulose, qu'elle est plus faible pour le lactose et le galactose et qu'elle est généralement nulle pour le maltose.

Avec ce dernier sucre, cette influence de l'excès de cuivre se fait pourtant sentir dans une faible mesure si la liqueur de Fehling est fortement diluée.

Voici un résumé de ses conclusions générales :

(1) Chaque sorte de sucre étudié a un pouvoir réducteur propre sur les solutions alcalines de cuivre.

(2) Le rapport entre le sucre détruit et le cuivre réduit n'est pas constant et dépend :

(a) de la concentration des solutions agissant l'une sur l'autre ;

(b) de la quantité de cuivre qui se trouve dans la solution.

L'influence de la concentration ressort du tableau suivant,

50^{cc} de solution à 1 % de chacun des sucres suivants réduisent :

	Liq. de Fehling non diluée	Liq. de de Fehling étendue de 4 v. d'eau
Dextrose ou glucose (Traubenzucker)	105 ^{cc} 2	101 ^{cc} 1
Sucre inverti (Invertzucker)	101 2	97 0
Lévulose (1) (Lævulose)	97 2	93 0
Lactose (Michzucker)	74 0	74 0
Galactose (Lactose)	98 0	94 0
Maltose (Maltose)	64 2	67 5
Lactose hydrolysé (Verænderter Milchzucker)	Pouvoir réduct. identique à celui du sucre inv. d'après Rodewald.	

Ce tableau montre combien est fausse l'opinion qui veut que 10^{cc} de liqueur de Fehling équivalent à 0^{gr}105 de glucose, de lévulose, de sucre inverti et de galactose.

Suivant la dilution et suivant l'espèce de sucre nous avons des résultats variant de 93 à 105,2, c'est-à-dire donnant un écart d'environ 12 %.

(1) Déduit du dextrose et du sucre inverti.

II. — METHODES PONDÉRALES

Dans les méthodes pondérales, on recueille l'oxydule précipité et on le pèse soit en nature, soit après l'avoir transformé en cuivre métallique par réduction ou en oxyde cuivrique par oxydation.

Il faut naturellement employer une quantité de liqueur de Fehling suffisante pour utiliser tout le sucre réducteur ; mais cette quantité de sucre étant inconnue, on est amené à employer un excès de liqueur de Fehling.

D'autre part les réactions qui se passent entre les liquides en présence sont complexes et peuvent être influencées par diverses circonstances si bien que le poids d'oxydule recueilli n'est pas proportionnel au poids de sucre employé.

Les premiers auteurs qui constatèrent ce fait en conclurent que le dosage pondéral était impossible.

Pourtant on ne tarda pas à observer que si ce rapport de réduction est variable, il l'est très régulièrement. Si on se place dans des conditions bien déterminées, on peut établir une table de concordance entre le poids de sucre et le poids de cuivre, représenter ces résultats par une courbe rapportée par exemple à des axes rectangulaires et calculer l'équation de cette courbe.

C'est ce que firent d'abord Mäcker (1), Allihn (2), Meissl (3), Soxhlet (4), Rodewald et Tollens (5), etc.

MÉTHODE PONDÉRALE DE MARKER

Mäcker après avoir rappelé le caractère variable du coefficient relatif au dextrose décrit son mode opératoire et donne les résultats obtenus.

Il emploie deux solutions séparées.

- a* 36^{gr} 632 de sulfate de cuivre pur
Q. S. d'eau pour faire un litre.
- b* 173^{gr} de sel de Seignette
63^{gr} de soude caustique
Q. S. d'eau pour un litre.

Il mélange dans un vase de Bohème portant un trait de jauge à 100^{cc}, 25^{cc} de chacune de ces deux solutions, soit l'équivalent de 25^{cc} de liqueur de Fehling puisqu'il fait deux litres avec les proportions correspondant à un litre. Il ajoute la solution de dextrose contenant au maximum 120^{mg} de sucre et complète le volume à 100^{cc} pour avoir toujours une concentration constante.

(1) Chem. Centralblatt 1878 p. 584.

(2) *Journ. f. pr. Chem.* 2^e série t. XXII p. 55.

(3) *Zeitsch. d. Vereins. f. Rübenzuckerindustrie* novembre 1879.

(4) *Journ. f. pr. Chemie* 2^e série t. XXI p. 229.

(5) *Journ. f. Landw* t. XXVII p. 458.

Le tout est chauffé au bain-marie bouillant pendant vingt minutes et filtré ; la partie de la solution qui ne tient pas immédiatement sur le filtre est maintenue au bain-marie.

L'oxydule est lavé sur le filtre avec 300^{gr} d'eau bouillante puis le filtre est incinéré dans un creuset de platine. L'oxydule est alors réduit à chaud en cuivre métallique par un courant d'hydrogène que fournit un appareil de Kipp.

Il y a une légère erreur en trop due au filtre qui retient énergiquement une petite quantité de liqueur de Fehling non réduite. Mais cette erreur est faible et dans les conditions où opérait Märcker elle ne dépassait pas 1^{mg} 4.

Soxhlet qui a essayé la méthode a trouvé une quantité plus considérable de cuivre retenu, mais il opérait avec une grande quantité de liqueur de Fehling.

Par sa méthode, Märcker détermina d'abord expérimentalement 3 valeurs avec le plus grand soin et mettant la relation entre le poids de glucose x et le poids de cuivre y sous la forme

$$y = a + bx + cx^2$$

il calcula les 3 coefficients a , b , c , au moyen des 3 équations

$$y_1 = a + bx_1 + cx_1^2$$

$$y_2 = a + bx_2 + cx_2^2$$

$$y_3 = a + bx_3 + cx_3^2$$

ou y_1 , y_2 , y_3 , x_1 , x_2 , x_3 : sont les nombres trouvés expérimentalement.

Le calcul lui donna :

$$\begin{aligned} a &= - 19,26 \\ b &= + 2,689 \\ c &= - 0,006764 \end{aligned}$$

De l'équation

$$y = - 19.26 + 2.689 x - 0.006764 x^2$$

il tira les nombres suivants par le calcul,

x	mil ^{gr} . de dextrose	y	mil ^{gr} . de de cuivre	y	x
	111.1		196.0	80	152.5
	110.0		194.7	75	144.4
	105		188.5	70	135.8
	100		182.0	65	127.0
	95		175.1	60	117.8
	90		167.9	55	108.2
	85		160.4	50	98.3

Des dosages de contrôle lui montrèrent que sa courbe s'accordait avec les faits. L'écart ne dépassait en général pas 1/2 % sauf pour 50^{mg} de glucose avec lesquels il obtint 100^{mg} de cuivre au lieu de 98,3.

Ulbricht (1) fait remarquer que le cuivre absorbe de l'hydrogène, environ 0.0005 pour 1 gramme quantité évidemment négligeable ; d'ailleurs comme le fait avec raison remarquer Märcker, les résultats ne sont pas modifiés puisqu'on dose par comparaison.

Soxhlet faisant l'étude critique de la méthode de Märcker lui fait quelques reproches.

(1) Chem. Centralblatt 1878 p. 75.

1). Les coefficients de réduction indiqués ne sont pas suffisamment exacts ; la courbe est en effet basée sur trois points seulement déterminés par l'expérience.

2). Un chauffage d'une durée de vingt minutes est non seulement inutile, mais peut facilement devenir nuisible. Si, par exemple, on dose le glucose à côté de substances qui, comme le saccharose ou les dextrines, ne sont pas réductrices par elles-mêmes la quantité de cuivre précipité est pourtant augmentée.

3). La filtration au papier retient d'après les propres données de Mærcker de $0^{\text{mg}}4$ à $1^{\text{mg}}4$ de cuivre ; celui-ci influe sur les résultats dans la proportion de 0.8 %. Par le dosage volumétrique au contraire (tel que le pratique Soxhlet) l'erreur n'excède pas 0.2 %.

La seule inspection de l'équation de Mærcker nous montre qu'elle ne saurait s'appliquer aux très petites quantités de glucose. En effet on a

$$y = -0,006764x^2 + 2.689x - 19.26$$

Si cette relation était constamment vraie, elle le serait encore à la limite où x disparaîtrait, c'est-à-dire où il n'y aurait plus de glucose ; le poids de cuivre serait alors de

$$y = -19.26$$

quantité négative évidemment inadmissible. Aussi Mærcker ne donne-t-il dans ses tables que les valeurs de x égales ou supérieures à 50 ; au dessous de cette limite il n'est dès lors plus légitime d'utiliser la méthode.

La table d'Allihn que nous donnons plus loin est plus générale.

MÉTHODE PONDÉRALE DE SOXHLET

Au début, Soxhlet filtrait rapidement sur un double filtre au moyen d'un appareil à aspiration ; le précipité d'oxydure lavé était enlevé, le filtre incinéré dans un creuset de porcelaine mince et l'oxyde cuivreux réuni était réduit à chaud par un courant d'hydrogène.

Le filtre retenait toujours du cuivre et jusqu'à 20 milligrammes pour 400^{cc} de liqueur de Fehling non étendue.

C'est plus tard que Soxhlet imagina son ingénieux système de filtration à l'asbeste.

Il emploie un petit tube droit à chlorure de calcium de 120^{mm} de long sur 13^{mm} de largeur. La boule en est à moitié remplie de brins d'asbeste croisés transversalement pour mieux retenir le précipité. On lave l'asbeste et on la sèche en chauffant le tube à feu nu pendant qu'on y fait passer un courant d'air par aspiration. Le tube est pesé puis mis en communication avec un appareil à aspiration. Il est dès lors prêt à servir.

Au moyen d'un entonnoir, on verse dans le tube ainsi préparé la totalité de la liqueur partiellement réduite, liquide et précipité. La filtration va étonnamment vite ; on lave à l'eau bouillante puis, la fiole à

aspiration ayant été changée, on lave encore deux fois à l'alcool, deux fois à l'éther et la plus grande partie de ce dernier étant chassée par un courant d'air, on met le tube en communication avec un appareil de Kipp à hydrogène.

Le tube maintenu incliné est chauffé avec une petite flamme maintenue à 5^{cm} au dessous de la boule. La réduction est complète en 2 ou 3 minutes.

On laisse refroidir le tube en y maintenant d'abord le courant d'hydrogène qu'on remplace ensuite par un courant d'air ; enfin le tube est pesé.

Pour pouvoir utiliser de nouveau l'appareil, on dissout le cuivre dans l'acide azotique faible ; on lave l'asbeste et on fait sécher. Il a perdu de 10 à 15 milligrammes.

Le dosage entier ne dure pas plus d'une heure.

La température à laquelle a lieu la réduction de l'oxyde cuivreux est peu élevée et Soxhlet s'est assuré que cette réduction peut être effectuée entre 130 et 135° ; le cuivre métallique obtenu est pur et prend sous le marteau l'éclat particulier à ce métal.

Tollens et Rodewald (1) emploient cette « élégante méthode de filtration à l'asbeste » comme plus commode et plus rapide que la méthode ordinaire et présentant, en raison du peu de surface de contact avec l'air, le minimum de danger de redissolution de l'oxyde cuivreux par réoxydation.

Quelques auteurs ont recommandé de suroxyder

(1) Ber. Berl. Chem. Ges. II. p. 2076.

l'oxyde Cu^2O par l'acide azotique et de le peser après calcination sous forme d'oxyde cuivrique CuO . Cette modification est à rejeter d'après Soxhlet ; il y aurait toujours perte d'un peu de cuivre par formation d'un azotate basique sublimable dès 250° .

TABLES POUR LE DOSAGE PONDÉRAL DE DIVERS SUCRES

A la suite de l'exposé de sa méthode, Soxhlet donne entre autres résultats, les valeurs suivantes qui se rapportent au lactose.

Il mélange 50^{cc} de liqueur de Fehling et la solution de lactose à $1/2\%$ (de 20 à 60^{cc}), complète 150^{cc} , fait bouillir 6 minutes et termine comme ci-dessus.

Voici les nombres obtenus :

Lactose en millig.	Cuivre en millig.
100	138.3
125	171.4
150	204.0
175	237.5
200	269.6
225	300.8
250	333.0
275	363.6
300	392.7

Le rapport du cuivre au lactose varie entre 1.383 et 1.309.

Il applique sa méthode à un cas concret, le dosage du lactose dans le lait.

Ce dernier est d'abord débarrassé du beurre et de la caséine au moyen du sulfate de cuivre et de la potasse (1), procédé qui donne une séparation très sûre et très complète.

25^{cc} de lait sont étendus avec 400^{cc} d'eau et additionnés de 10^{cc} de solution de sulfate de cuivre à 69.128 par litre (solution bleue pour liq. de Fehling), puis de 6.5 à 7.5^{cc} de lessive de potasse précipitant exactement son volume de la solution de sulfate de cuivre ci-dessus. Après l'addition de la potasse, le liquide doit-être encore un peu acide et peut contenir une petite quantité de cuivre.

On complète 500^{cc} et on passe sur un filtre plissé sec ; on obtient donc une dilution du lait à $\frac{1}{20}$.

100^{cc} de ce liquide contenant environ 0.25 % de lactose sont mélangé à 50^{cc} de liq. de Fehling dans un Becherglas ; on porte à l'ébullition sur une double toile métallique, on laisse bouillir 6 minutes et on termine en suivant la méthode générale.

Cette méthode, dit Soxhlet, donne rapidement des résultats tout à fait exacts. Le nombre trouvé y tombe généralement entre ceux du tableau ci-dessus, on calcul par interpolation la valeur correspondante de x .

DOSAGE PONDÉRAL DU GLUCOSE

ALLIHN

A la suite des travaux de Märcker et d'une publication préalable de Soxhlet, Allihn (2) s'occupa de dresser une table pour le dosage pondéral du glucose.

(1) Rittausen (*Journ. f. prakt. Ch.* (2) 15 p. 332.

(2) *Loc. cit.*

Il confirme les recherches de Soxhlet concernant le caractère variable du rapport de réduction entre le glucose et le cuivre, suivant les conditions de l'opération. Il insiste pour qu'on se place dans des conditions rigoureusement déterminées, ce qu'avait fait Märcker d'ailleurs ; mais il s'écarte de ce dernier auteur par plusieurs points et notamment pour la filtration qu'il effectue avec l'appareil de Soxhlet.

D'autre part, il fit un nombre suffisant d'expériences pour pouvoir déterminer avec exactitude non par 3 points comme Märcker, mais bien 11 points de la courbe. Il en résulte que celle-ci est beaucoup plus générale que celle de Märcker. Elle s'étend de 10 à 463^{mg} de cuivre et de 6.1 à 250^{mg} (249.9) de glucose.

Ajoutons que ces essais faits avec le plus grand soin avec du glucose d'une pureté absolue sont restés classiques et que la table d'Allihn est en quelque sorte officielle pour le dosage pondéral du glucose.

Il employait sa liqueur de Fehling à la potasse dont nous avons donné la formule. Les deux solutions dont elle se compose, n'étaient mélangées que peu de temps avant l'opération.

Voici son mode opératoire :

On met dans le Becherglas de 300^{cc} de capacité 60^{cc} de liq. de Fehling et 60^{cc} d'eau ; on porte à l'ébullition à feu nu ou sur un bain de sable. Au liquide en vive ébullition, on ajoute avec une pipette 25^{cc} de solution sucrée contenant au plus 1 % de glucose. On chauffe de nouveau jusqu'à l'ébullition et on filtre pour séparer l'oxyde cuivreux.

Allihn emploie le filtre d'asbeste de Soxhlet ; il prend pour cela un bout de tube à combustion de 10^{cc} de longueur ; il l'étire à un bout à la moitié de sa grosseur puis plus loin à 1/4 de cette grosseur et limite ainsi une espace destiné à recevoir l'asbeste. Il y place d'abord une petite bourre de coton de

verre puis au dessus de grands filaments d'asbeste récemment calcinée. Ces derniers doivent être tassés modérément pour que la filtration soit rapide, et que l'oxyde cuivreux ne puisse traverser.

L'aspiration est produite avec une trompe à eau ; l'oxydule est lavé à l'eau chaude, à l'alcool, à l'éther pour faciliter la dessiccation qui est terminée dans une étuve à air chaud. La réduction par l'hydrogène se fait dans le tube même qui est chauffé au-dessus d'une petite flamme. L'opération est terminée lorsque le cuivre se présente sous l'aspect métallique et qu'il ne se forme plus de gouttelettes d'eau dans la partie froide du tube ; mais il faut maintenir le courant d'hydrogène pendant le refroidissement pour ne pas réoxyder le cuivre. On porte alors le petit tube dans un exsiccateur d'où on ne le retire que pour le peser.

Pour déterminer chacun des 11 points de la courbe il fit 2 ou 3 essais concordant généralement à moins de 2 milligrammes près.

Voici les moyennes obtenues en appelant x le nombre de milligrammes de glucose et y le nombre de milligrammes de cuivre :

$x = 250$	$y = 463.0$
225	421.2
200	377.7
175	333.0
150	287.7
125	242.5
100	195.0
50	99.0
25	47.5
20	38.2
10	18.0

Ces valeurs ne s'accordant pas avec une fonction linéaire de la forme $y = a + bx$, il les mit sous la forme $y = a + bx + cx^2$.

Les coefficients a b c sont tirés de la combinaison des onze équation qu'on peut former avec les valeurs ci-dessus de x et de y . On trouve :

$$\begin{aligned} a &= - 2.5647 \\ b &= + 2.0522 \\ c &= - 0.0007576 \end{aligned}$$

L'équation de la courbe est donc :

$$y = - 2.5647 + 2.0522 x - 0.0006576 x^2$$

Les valeurs de x que l'on peut calculer par cette formule et d'après le poids de cuivre recueilli, concordent à moins de 1^{mg} près avec la quantité de dextrose employée. Allihn en conclut que son équation représente réellement la loi du phénomène et s'en sert pour calculer le glucose en fonction du cuivre.

La table qu'il donne à ce sujet comprend le cuivre de millig. en millig. et la quantité correspondante du glucose.

Nous en donnons un extrait de 10 en 10^{mg}

EXTRAIT DE LA TABLE D'ALLIHN

Millig. de Cuiv.	Millig. de Dext.				
$y = 10$	$x = 6.1$	$y = 170$	$x = 86.9$	$y = 330$	$x = 173.1$
20	11.0	180	92.1	340	178.7
30	16.0	190	97.3	350	184.3
40	20.9	200	102.6	360	190.0
50	25.9	210	107.9	370	195.7
60	30.8	220	113.2	380	201.4
70	35.8	230	118.5	390	207.1
80	40.8	240	123.9	400	212.9
90	45.9	250	129.2	410	218.7
100	50.9	260	134.6	420	224.5
110	56.0	270	140.0	430	230.4
120	61.1	280	145.5	440	236.3
130	66.2	290	151.0	450	242.2
140	71.3	300	156.5	460	248.1
150	76.5	310	162.0	463	249.9
160	81.7	320	167.5		

Si dans la formule ci-dessus on fait $x < 1.3$, la valeur correspondante de y est négative. Allihn attribue cette anomalie à la petite perte de poids du filtre d'asbeste par l'action de la solution alcaline chaude. Il a constaté en effet que cette perte de poids variait de 0^{mg} 75 à 1^{mg} 5 ; c'est là une petite cause d'erreur qui ne saurait en rien influencer sur la valeur du dosage.

Par la même méthode Allihn confirma que le sucre inverti est moins réducteur que le glucose; avec 250^{mg} il n'obtenait que 0^{gr} 447 de Cu par une simple ébullition. Il lui a fallu faire bouillir 32 minutes pour obtenir les 463^{mg} correspondant à 250^{mg} de glucose.

DOSAGE PONDÉRAL DU SUCRÉ INVERTI

HERZFELD, PREUSS ET GERECKEN

Un grand nombre de tables ont été publiées principalement dans les journaux spéciaux à l'industrie du sucre. Les auteurs ayant employé des liqueurs de Fehling différentes n'ont pas obtenu les mêmes résultats.

Herzfeld, Preuss et Gerecken (1) emploient la liqueur Soxhlet. Ils préparent d'abord leur sucre inverti de la façon suivante :

13^{gr} 024 de saccharose sont dissous dans 75^{cc} d'eau (le poids normal du sucre pour le polarimètre allemand est de 26^{gr} 048). On ajoute à la solution 5^{cc} d'acide chlorhydrique à 38 % de HCl réel ; on intervertit à 69° puis on complète 100^{cc}. 50^{cc} de cette liqueur sont étendus à un litre et donnent une solution à 0^{gr} 6512 de saccharose pour 100^{cc}.

(1) Zeitsch. d. Vereins cité p. Tollens (*loc. cit.*) p. 492.

25^{cc} de cette dernière solution sont saturés par 25^{cc} d'une solution de carbonate de soude à 1^{er} 7 par litre, mis à bouillir 3 minutes avec 50^{cc} de liqueur de Soxhlet.

On étend d'un égal volume d'eau et on termine l'opération d'après les indications de Soxhlet.

Voici un extrait de la table qu'ils ont obtenue, les résultats sont exprimés en millig. et le sucre compté en saccharose.

Sacch.	Cu.	Sacch.	Cu.	Sacch.	Cu.
—	—	—	—	—	—
40 —	79.0	85 —	168.6	130 —	252.9
45 —	89.2	90 —	178.2	135 —	261.9
50 —	99.3	95 —	187.8	140 —	270.9
55 —	109.4	100 —	197.3	145 —	279.9
60 —	119.5	105 —	206.7	150 —	288.8
65 —	129.4	110 —	216.1	155 —	297.5
70 —	139.3	115 —	225.3	160 —	306.1
75 —	149.1	120 —	234.6	165 —	314.7
80 —	158.9	125 —	243.9	170 —	323.3

(Nous avons calculé d'après la méthode exposée plus loin une équation qui représente bien les résultats et qui permet d'obtenir les nombres intermédiaires.

Nous avons obtenu la formule

$$y = - 0.0013 x^2 + 2.155 x - 5.2$$

en appelant x le nombre de milligr. de saccharose et y le nombre de milligr. de cuivre).

DOSAGE PONDÉRAL DU LÉVULOSE

HÖNIG ET JESSER

Lhemann (1) avait fait la détermination du pouvoir réducteur du lévulose en faisant bouillir ce sucre $1/4$ d'heure avec la liqueur de Fehling.

Il jugeait nécessaire une aussi longue ébullition à la suite d'une expérience d'Allihn que nous avons relatée. Le sucre inverti mis à bouillir pendant 32 minutes avec la liqueur de Fehling avait précipité autant de cuivre qu'un même poids de glucose.

Hönig et Jesser (2) firent quelques expériences à ce sujet avec la liqueur d'Allihn.

Dans 3 essais avec 250^{mg} de lévulose et où la durée de l'ébullition fut 2, 5 ou 10 minutes, ils obtinrent respectivement 428, 430 et 439^{mg} de cuivre.

L'augmentation à partir de 2 minutes est assez faible pour qu'on puisse, avec Allihn, l'attribuer à une réduction spontanée de la liqueur de Fehling.

D'ailleurs, on sait que le lévulose est, par tous les agents, plus facilement détruit que le galactose. La conclusion à tirer de tout cela est qu'une ébullition de 2 minutes est bien suffisante.

Ces auteurs ont opéré exactement comme Allihn et avec la même liqueur.

(1) Zeitsch. d. Vereins f. Rüb. d. D. R. 1884 993r

(2) Monatshefte f. Ch., t. IX (1888) p. 572.

Ils ont obtenu expérimentalement huit points de la courbe de réduction relatés dans le tableau ci-dessous.

x poids de lévulose en millig.

y — cuivre

$x = 250$	$y = 428$
194.8	338
158.9	276
122.6	224.6
76.5	137.2
61.3	108.0
21.7	35.3
9.7	13.3

Avec ces nombres, ils ont calculé l'équation suivante :

$$y = -5.372 + 1,91856 x - 0,0007605 x^2$$

qui représente bien l'ensemble des faits et qui leur servit à dresser une table dont voici un extrait :

x et y ont la même signification que ci-dessus.

x	y	x	y
10	13.7	140	248.4
20	32.7	150	265.3
30	51.5	160	282.2
40	70.1	170	298.8
50	88.6	180	315.3
60	107.1	190	331.7
70	125.2	200	347.9
80	143.2	210	364.0
90	161.1	220	379.9
100	178.9	230	395.7
110	196.5	240	411.3
120	213.9	250	426.7
130	231.2		

Dans cette table la quantité de cuivre qui correspond à un poids donné de lévulose est toujours inférieure à celle qui correspond au même poids de glucose.

Dans la table de Lehmann, au contraire, s'il y a moins de 33^{mes} de lévulose, ce dernier sucre est plus réducteur que le glucose; mais les conditions de l'opération ne sont pas les mêmes.

DOSAGE PONDÉRAL DU GALACTOSE

STEIGER

E. Steiger (1) fait remarquer que des tables ont été données par divers auteurs pour le dosage pondéral des sucres, mais qu'il y a une lacune à combler pour le galactose. Ce corps est intéressant car on l'obtient par l'hydrolyse d'un grand nombre de substances extraites des végétaux.

Il opère avec un produit pur bien cristallisé et contrôlé par l'examen polarimétrique.

Il emploie la liqueur de Soxhlet, mais ayant constaté après ce dernier auteur l'altérabilité de la solution alcaline de sel de Seignette, il prépare séparément une solution de soude et une solution de sel de Seignette. La liqueur de Fehling se compose ainsi de trois solutions qui sont mélangées peu de temps avant l'usage.

Solution α

34^{gr}64 de sulfate de cuivre pur pour 500^{cc}

(1) Zeitsch. f. Anal. Chem. t. XXVIII (1889) p. 444.

Solution *b*

173^{gr} de sel de Seignette pour 400^{cc}

Solution *c*

500^{gr} de soude caustique pur du commerce pour un litre.

Pour l'usage il mélange 80^{cc} de solution *b* et 20^{cc} de solution *c*, puis ajoute 100^{cc} de solution *a* et agité bien.

Mode opératoire. — Dans un Becherglas de 300^{cc} de capacité il met 60^{cc} de liq. de la Fehling ci-dessus et 60^{cc} d'eau; il porte à l'ébullition sur une toile métallique garnie d'asbeste.

Lorsque le liquide est en vive ébullition, il y laisse couler avec une pipette 25^{cc} de la solution de galactose à essayer, continue à chauffer et maintient le mélange en ébullition pendant 3 ou 4 minutes.

Pour la filtration il se sert de l'appareil de Soxhlet modifié par Allihn, mais remplace le tampon de coton de verre par une couche de longs filaments d'asbeste qu'il recouvre par un lit de 15 à 20^{mm} de hauteur d'autres filaments d'asbeste choisis le plus courts possible.

Avant l'usage ce filtre est lavé à l'acide azotique concentré, à l'alcool et à l'éther.

Il constata après Allihn que par une longue ébullition, la quantité de cuivre réduit est un peu augmentée. Cet écart dépassait 3 % lorsqu'il faisait bouillir 30 minutes au lieu de 3 minutes.

Au contraire, en chauffant 3 ou 7 minutes, il n'obtint pas de différence appréciable. Il en conclut qu'une ébullition de 3 à 4 minutes est très convenable pour ce dosage :

La table ci-dessous a été obtenue expérimentalement. Chaque nombre est la moyenne de 3 ou 4 déterminations dont l'écart était toujours inférieur à 1 %.

TABLE DE STEIGER (GALACTOSE)

Galactose.	Cuivre.	Galactose.	Cuivre.
250.0	— 434.5	125.0	— 232.7
237.5	— 411.8	112.5	— 211.1
225.0	— 393.6	100.0	— 188.7
212.5	— 375.0	87.5	— 165.4
200.0	— 354.2	75.0	— 142.4
187.5	— 335.0	62.5	— 120.2
175.0	— 316.4	50.0	— 94.8
162.5	— 297.6	37.5	— 73.1
150.0	— 277.5	25.0	— 49.9
137.5	— 254.0		

Ces quantités portées en un système de coordonnées peuvent servir à tracer une courbe représentant la loi de la réduction.

Pourtant l'auteur indique de calculer les valeurs intermédiaires proportionnellement à la différence entre les deux termes voisins. Il remplace ainsi la courbe par une ligne polygonale dont les sommets sont représentés par les nombres ci-dessus ; l'erreur que l'on peut ainsi commettre est tout-à-fait négligeable.

MÉTHODES INDIRECTES

Les méthodes qui viennent d'être exposées : méthode volumétrique de Soxhlet, diverses méthodes pondérales ne laissent évidemment rien à désirer au point de vue de l'exactitude.

Il faut bien avouer cependant que leur exécution rationnelle est assez longue et délicate.

Un certain nombre d'auteurs ont cherché à réunir les avantages de la méthode pondérale tout en en supprimant la partie pondérale, c'est-à-dire la pesée du cuivre.

Ils proposent de doser le cuivre dans la liqueur de Fehling avant et après l'action réductrice du sucre ; la différence entre les deux résultats indique la quantité de cuivre qui a été réduite.

Politis (1) a d'abord dosé dans la liqueur de Fehling le cuivre excédent par l'iodure de potassium et l'hyposulfite de soude.

Cette méthode a été reprise plus récemment et avec les développements quelle comporte par Lehmann Riegler, Maquenne.

MÉTHODE INDIRECTE DE LEHMANN (2)

On mélange une quantité déterminée de liqueur de Fehling dont la teneur en cuivre est exactement connue avec une quantité également déterminée de solution sucrée. On chauffe à l'ébullition jusqu'à ce que la réduction soit complète, c'est-à-dire 2 minutes pour le glucose, 3-4 min. pour le maltose, etc.

On sépare le précipité par filtration et on complète 250^c avec de l'eau distillée, ou bien encore, on porte simplement le tout dans une éprouvette et on complète 250^{cc}. Dans ce dernier cas le précipité se sépare par le simple repos et on obtient assez vite une quantité suffisante de liquide privé d'oxydule. On prend une quantité déterminée de ce liquide, soit 50^{cc} ; on y ajoute un peu d'acide sulfurique, d'iodure de potassium et

(1) Zeitsch. d. V. f. Rub. 1889 p. 935.

(2) Chem. Centrablatt 1897 t. II p. 233.

d'amidon et on titre l'iode mis en liberté par l'hyposulfite de soude décinormal.

La réaction se passe suivant l'équation.



En pratique il est avantageux de n'ajouter la solution d'amidon que vers la fin, lorsque par l'addition progressive d'hyposulfite la teinte brune due à l'iode est devenue jaune clair.

Les avantages de cette nouvelle méthode sautent aux yeux dit Lehmann, et on peut avec quelque habitude effectuer un dosage en une demi-heure environ.

Par des essais de contrôle, cette méthode, dit l'auteur, donne habituellement des résultats tout-à-fait justes ce qui n'est pas toujours le cas en suivant la technique de Fehling.

MÉTHODE INDIRECTE DE RIEGLER

Plus récemment Riegler (1) a fait l'étude détaillée d'une méthode qui repose sur le même principe que celle de Lehmann.

Il fait d'abord un essai de contrôle sans sucre. On met dans un matras de 200^{cc} environ, 20^{cc} de liqueur de Fehling (10^{cc} de solution bleue et 10^{cc} de solution blanche); on ajoute 100^{cc} d'eau, 2^{cc} d'acide sulfurique pur et concentré, on agite et on laisse refroidir. On ajoute ensuite environ 1^g. d'iodure de potassium dissous dans 10^{cc} d'eau, on mélange et on attend dix minutes. L'iode mis en liberté est dosé, en présence de 3^{cc} de solution d'amidon, par une solution décinormale d'hyposulfite de soude. La liqueur doit se maintenir décolorée pendant 5 minutes, mais on ne tient pas compte d'une recoloration ultérieure possible.

(1) Zeitsch. f. Anal. Chem. t. XXXVII p. 22.

Pour chaque c. c. de solution décimormal d'hyposulfite il faut compter 0^e 00635 de Cu. Si les solutions sont bien préparées il faut 27^e 8 de solution d'hyposulfite ; mais ce nombre 27,8 doit être contrôlé et modifié s'il y a lieu, par suite d'une légère altération des liqueurs.

Pratique d'un dosage. — Pour un dosage de glucose Riegler met dans un vase de Bohême de 200^{cc}, exactement 10^{cc} de sol. de cuivre, 10^{cc} de sol. alcal. de sel de Seignette, environ 30^{cc} d'eau et porte à l'ébullition sur une toile métallique ; il ajoute 10^{cc} d'une solution contenant au plus 1 % de glucose ou 10^{cc} d'une urine amenée à cette dilution et maintient l'ébullition quelques secondes ; il laisse le précipité se rassembler un peu ou bien passe sur un petit filtre en papier épais et lave le précipité sur le filtre avec 80^{cc} d'eau.

Le liquide filtré est recueilli dans un matras de 200^{cc} et additionné de 2^{cc} d'acide sulfurique concentrée ; on mélange bien et on laisse refroidir ; on ajoute ensuite 1^{er} de KI dissous dans 10^{cc} d'eau, on agite et on attend 10 minutes. Le mélange est finalement additionné de 3-4^{cc} de solution d'amidon et l'iode mis en liberté y est dosé par la solution d'hyposulfite. La disparition de la coloration bleue doit se maintenir pendant 5 minutes.

Soit v le nombre dec.c. d'hyposulfite employé, il est facile de voir que le produit $(27,8 - v) \times 0.00635$ représente la quantité de cuivre réduite par le sucre.

Dans 4 essais de contrôle rapportés par l'auteur il a obtenu un écart compris entre 0,7 et 2 %.

(Nous ferons ici quelques remarques :

a) Il faut pour que l'emploi de la table d'Allihn soit légitime se servir de la même liqueur que ce dernier, ce que l'auteur ne dit pas explicitement ;

b) La dilution est un peu différente presque indépendamment de la solution sucrée.

Riegler mélange 20^{cc} de la l. de Fehling et 30^{cc} d'eau alors qu'Allih mélange 60^{cc} de liq. de Fehling et 60^{cc} d'eau. Nous savons qu'une si faible modification peut donner une différence appréciable ;

c) La table d'Allihn ayant été établie pour 60^{cc} de liq. de Fehling on ne peut pas l'utiliser telle quelle puisqu'on emploie ici que 20^{cc} de ce réactif, il faut au préalable en diviser tous les termes par 3. On trouve par exemple 120^{mg} de cuivre. On ne doit pas prendre pour le glucose le nombre correspondant, soit 62^{ml}, mais bien le tiers de celui qui correspond à $120 \times 3 = 360^{\text{mg}}$ de cuivre, soit 63^{ml}, on voit que la différence n'est pas négligeable).

APPLICATION AU LAIT

A la suite de l'exposé de sa méthode, Riegler en donne une application au lait.

Il faut, avant tout, séparer les matières albuminoïdes ce qui se fait complètement et avec une extraordinaire facilité au moyen du réactif à l'asaprol qu'on prépare ainsi :

15^{gr} d'asaprol et 15^{gr} d'acide citrique pulvérisé, sont dissous ensemble dans 500^{cc} d'eau distillée, la solution est filtrée. Elle se conserve indéfiniment.

On met 15^{cc} de ce réactif dans un ballon jaugé de 100^{cc} on y ajoute au moyen d'une pipette exactement 10^{cc} de lait et le volume est complété à 100^{cc}. Après une vive agitation le mélange est chauffé jusqu'à 60° et filtré.

Le filtrat clair comme de l'eau est complètement privé d'albuminoïdes ; on en mesure exactement 20^{cc} dans un

Becherglas de 200^{cc}; on y ajoute 10^{cc} de solution de sulfate de cuivre, 10^{cc} de solution alcaline de sel de Seignette et environ 30^{cc} d'eau : le tout est mélangé et mis à bouillir 6 minutes.

Dès que le précipité est un peu rassemblé, le liquide est filtré encore chaud. C'est sur ce filtrat qu'il y a lieu de doser le cuivre comme plus haut pour le glucose.

La quantité de lactose correspondante est donnée par la table de Soxhlet.

(Nous ferons ici la même remarque que plus haut. La table de Soxhlet dressée pour 50^{cc} de liqueur de Fehling ne saurait s'appliquer sans modification à un essai où l'on emploie 20^{cc} de ce réactif. Il faut multiplier tous les termes par 0,4).

MÉTHODE INDIRECTE DE MAQUENNE

M. Maquenne (1) supprime la filtration et ajoute un grand excès d'acide sulfurique pour faciliter la réaction de l'iodure de potassium sur le sulfate de cuivre.

Dans une fiole à fond plat de 125^{cc} de capacité, il introduit d'abord 10^{cc} de liqueur de Fehling (formule Pasteur) puis le liquide sucré (contenant au plus 50^{mg} de glucose) et enfin Q. S. d'eau pour faire 30^{cc}. On chauffe rapidement à l'ébullition qui est maintenue pendant deux minutes ; on refroidit sous un courant d'eau et on ajoute sans filtrer 20^{cc} d'acide sulfurique à 1/2 puis 10^{cc} de KI à 10 %.

Immédiatement après on dose par l'hyposulfite de soude et l'amidon soluble ; ce dernier ajouté seulement quand la majeure partie de l'iode est dissoute.

Il faut opérer par comparaison avec une quantité connue

(1) Bullet Soc. Ch. Paris nov. 1898.

de sucre pur. L'auteur donne une table applicable au sucre inverti.

La méthode de M. Maquenne est d'une grande commodité ; la filtration qu'il supprime étant quelquefois très pénible lorsqu'on opère sur certains liquides organiques complexes. La coloration du milieu est rarement un obstacle sérieux étant donnée la grande sensibilité de la réaction à l'iodure d'amidon.

Nous avons fait un certain nombre d'essais où sur le conseil de M. Grimbert nous avons quelque peu modifié la méthode.

Nous ajoutons à la solution contenant l'iode un excès d'hypo-sulfite de soude qui est lui-même dosé au moyen d'une solution titrée d'iode.

On apprécie facilement à 2 ou 3 gouttes près le terme de la réaction ce qui, sur un grand volume mesuré (jusqu'à 40^{cc}), donne un écart insignifiant.

Il est commode d'employer des solutions d'iode et d'hypo-sulfite équivalentes et contenant par exemple : la première 10^{gr} d'iode pur et sec par litre et l'autre 19^{gr}53 d'hypo-sulfite de soude ; cette dernière étant contrôlée par l'iode.

Il faut opérer rapidement lorsqu'on a ajouté l'excès d'hypo-sulfite de soude. L'acide hyposulfureux mis en liberté se dédouble au bout de quelque temps en soufre et acide sulfureux et ce dernier absorbe une quantité d'iode double.

Ces méthodes indirectes à l'hypo-sulfite sont rapides et donnent de meilleurs résultats que l'essai habituel à la liqueur de Fehling. L'approximation que l'on peut atteindre dépend beaucoup de l'observation stricte de toutes les conditions opératoires.

Nous n'en avons pourtant pas obtenu l'exactitude presque absolue des dosages par pesée effectués suivant la méthode décrite plus loin.

Cette méthode qui supprime toute filtration est basée sur l'emploi de la centrifuge.

Nous en devons l'heureuse inspiration à M. Meillière, Pharmacien chef de l'hôpital Tenon, Chef des travaux chimiques de l'académie de médecine. Une fois de plus nous avons pu apprécier la valeur des bienveillants conseils qu'il n'a cessé de nous prodiguer et dont nous ne saurions lui témoigner toute notre reconnaissance.

MÉTHODES DIVERSES

Outre son altérabilité à laquelle on peut remédier en préparant et conservant des solutions partielles séparées, la liqueur de Fehling a encore un inconvénient que nous avons déjà signalé; elle donne des résultats différents lorsque le sucre réducteur est accompagné de différentes substances non réductrices par elles-mêmes telles que le saccharose, les dextrines, etc.

Si, par exemple, on veut doser par pesée du glucose dans une solution contenant une notable quantité de saccharose, on obtiendra toujours plus de cuivre que la quantité correspondant au glucose.

Aussi Meissl (1) a-t-il établi des tables pour le dosage pondéral du sucre inverti à côté du sucre de canne, cas qui trouve son application fréquente dans l'industrie du sucre.

Depuis quelque temps on emploie un certain nombre de liqueurs ne présentant pas cet inconvénient. Ce sont en général des solutions de carbonate ou d'oxyde de cuivre dans du bicarbonate de potasse. Elles sont connues sous l'appellation

(1) Zeitsch. d. Vereins. f. Rüb. nov. 1879.

générique de liqueur de Soldaini, du nom de leur promoteur.

Elles sont moins faciles à réduire que la liqueur de Fehling et l'oxyde cuivreux ne se sépare que petit à petit à l'ébullition.

La liqueur d'Ost qui est l'une des plus employées se prépare ainsi :

a dissoudre 23^{gr} de sulfate de cuivre dans de l'eau.

b dissoudre 250^{gr} de carbonate de potasse et 100^{gr} de bicarbonate de potasse dans de l'eau, verser la solution *a* dans la solution *b*, mélanger le tout et compléter un litre.

Ost a employé cette solution pour doser par pesée les diverses sortes de sucres et à cet effet, il a dressé des tables pour le galactose, le lévulose, le sucre inverti, le galactose et l'*arabinose*. Il fait bouillir 10 minutes.

Voir dans Tollens et Bourgeois (1) d'autres formules analogues.

(1) (*Loc. cit.* p. 427.)

CHAPITRE V

NOUVELLE MÉTHODE DE DOSAGE PONDÉRAL DES SUCRES BASÉE SUR L'EMPLOI DE LA CENTRIFUGEUSE

Les nombreuses tables que nous venons de donner pour la détermination pondérale des sucres sont évidemment établies avec le plus grand soin et méritent la confiance entière des praticiens.

Pourtant on a pu remarquer que les auteurs emploient plusieurs solutions cupriques différentes et modifient plus ou moins leur technique. Ces dosages, pour donner la précision qu'on en attend, doivent être faits d'après le mode opératoire, spécialement suivi par l'auteur.

Il n'y a à cela aucun inconvénient sérieux lorsqu'on dose une solution ne pouvant contenir qu'un seul de ces sucres ; on a seulement l'obligation de préparer plusieurs liqueurs de Fehling différentes. Mais s'il s'agit d'un mélange de nature mal connue, aucune de ces méthodes n'est légitime puisque aucune n'est générale.

On a souvent de tels liquides dans les recherches de chimie biologique. Les divers sucres que l'on peut administrer dans un but thérapeutique, clinique ou purement expérimental subissent en effet certaines réactions de l'organisme, dédoublement, combustion,

destruction élective (glycolyse par exemple) etc ; qui peuvent donner naissance à des mélanges complexes et différents suivant l'humeur considérée (suc gastrique, suc digestif, sang, urine etc).

L'organisme peut lui même fournir son contingent de sucres réducteurs et cela soit spontanément, soit sous l'influence d'une excitation artificielle (glycosurie phloridzique).

Nous avons montré plus haut de quelle utilité peut-être, pour l'analyse de tels mélanges, la détermination précise de leur pouvoir réducteur, Nous venons de voir qu'il serait nécessaire pour cela de posséder une méthode s'appliquant uniformément à tous ces sucres ; nous allons essayer d'y arriver. Nous ferons toujours usage du même réactif dont nous emploierons un volume constant et que nous étendrons d'un volume d'eau invariable (solution sucrée comprise). Nous aurons à déterminer exactement au moyen de produits purs, les pouvoirs réducteurs de chacun de ces sucres.

Nous pourrions choisir l'une quelconque des nombreuses liqueurs qui ont été préconisées. Nous avons employé la formule de Pasteur parceque, comme l'avait reconnu ce dernier elle est peu altérable et peut servir plusieurs jours de suite sans modification sensible.

Nous avons à ce sujet fait les 8 essais comparatifs suivants sur deux échantillons de liqueur de Pasteur dont l'un datait de 2 mois et l'autre était du jour.

Avec 10^{cc} de solution de lactose à environ 1 % nous avons obtenu :

Liq. ancienne	449 ^{mg} 5	de Cu ² O
—	449.0	—
Liq. récente	446.0	—
—	446.0	—

Avec 0^{gr}10 de glucose

Liq. ancienne	216 ^{mg} 0	de Cu ² O
—	215.5	—
Liq. récente	214.5	—
—	214.5	—

De plus la liqueur Pasteur étant très alcaline, elle nous permettra d'opérer avec des liquides contenant une petite quantité d'acide chlorhydrique sans que les résultats en soient faussés d'une façon appréciable.

Les diverses tables que nous avons reproduites ci-dessus ont été établies avec une quantité relativement grande de liqueur de Fehling, 50 ou 60^{cc} qu'on étendait avec un ou deux volumes d'eau. La masse de cuivre à recueillir peut être assez élevée et sa pesée effectuée avec une grande précision.

Dans notre méthode, nous disposons d'un volume restreint ; la capacité de nos tubes ne dépasse guère 50^{cc} et pour pouvoir effectuer commodément les manipulations il convient de ne pas dépasser 40 ou tout au plus 45^{cc} de liquide total.

Dans ces conditions, en opérant avec une liqueur étendue de deux volumes d'eau, par exemple, nous n'aurions eu à recueillir qu'une faible quantité d'oxyde cuivreux sur laquelle les erreurs expérimentales auraient pris plus d'importance.

Nous employons d'une façon uniforme 25^{cc} de liqueur

de Fehling non diluée à laquelle nous ajoutons 1/2 volume d'eau, soit 12^{cc}5, y comprise la solution sucrée.

La dilution est donc constante et permet d'obtenir des résultats comparables entre eux ; d'autre part, nous aurons à recueillir un poids d'oxyde cuivreux suffisant (jusqu'à 250^{mg}) pour que les erreurs de pesée soient insignifiantes.

Toutes les formules de liqueur de Fehling que l'on a données sont basées sur ce fait théorique admis depuis Fehling qu'une molécule de glucose réduit 5 molécules d'oxyde cuivrique. Or, il ressort des travaux de Soxhlet que cette opinion est toute gratuite.

Ces liqueurs donnent à la réduction 9^{gr}.88 d'oxyde cuivreux par litre. Nous en avons légèrement augmenté la teneur en cuivre de façon à recueillir 10^{gr} par litre d'oxyde soit 250^{mg} pour 25^{cc}. Il y a ainsi plus de facilité pour apprécier le degré de réduction de la liqueur sans inconvénient aucun, puisque le nombre fatidique 34.639 ne se recommande, abusivement même, que pour les dosages volumétriques.

CENTRIFUGEUSE

L'idée d'appliquer les machines centrifugeuses à l'isolement des précipités est déjà vieille. Outre leur emploi dans l'industrie où, sous le nom d'essoreuses, elles servent à divers usages, elles ont trouvé depuis quelques années leur application dans les laboratoires de physiologie et de bactériologie. On les y utilise pour

isoler des précipités organiques qui se prêtent mal à la filtration habituelle, soit en raison de leur ténuité, de leur consistance ou de leur peu d'abondance, soit en raison de leur nature délicate et de leurs affinités.

Il existe différents modèles de laboratoire qui sont actionnés à la main, par un jet d'eau, un jet de vapeur, ou même un petit moteur à gaz.

La centrifugeuse du laboratoire de M. Meillière et qu'il a eu la bienveillance de mettre à notre disposition est celle de Runne à Heidelberg.

Elle peut recevoir 4 tubes à la fois.

Elle est mue par l'eau qui, au moyen de 3 ajutages vient frapper sur des arêtes que porte l'appareil et imprime à ce dernier un mouvement de rotation rapide. La prise d'eau est greffée sur une conduite quelconque où la pression doit-être suffisante.

Etant donnés cette pression de l'eau et le rayon du cercle où frappe le jet, il est facile de calculer ce que serait la vitesse si les frottements n'absorbaient une notable partie de l'énergie dépensée.

Soit h la pression de l'eau en mètres, g l'intensité de la pesanteur en mètres : la vitesse d'écoulement est

$$v = \sqrt{2gh}$$

si r est le rayon du cercle où l'eau s'échappe, la longueur de la circonférence décrite est $2\pi r$; le nombre de tours à la seconde devrait être

$$n = \frac{\sqrt{2gh}}{2\pi r}$$

Si on fait $h = 30^m$ soit 3000^{cm} , $r = 3^{cm}$. On aura $n = 128$, soit près de 8000 tours à la minute.

En réalité on atteint environ 3000 tours. Nous avons eu l'occasion, après y avoir adapté une sorte de vibroscope à 4 dents par tour, de faire déterminer par un musicien la hauteur du son produit. C'était le fa^2 qui fait 174 vibrations doubles par seconde, soit 43.5 tours par seconde et 2610 à la minute.

La pression de l'eau était un peu réduite. Elle fut mesurée avec un manomètre improvisé à mercure et air et trouvée égale à 2 1/4 atmosphères.

Sous l'action de cette rotation rapide, le précipité plus dense que la solution tend à s'échapper et va se fixer sur la paroi inférieure du tube, paroi devenant le point de plus grand rayon par suite de la position horizontale que prennent ces derniers.

L'intensité de la force centrifuge développée en un point peut être exprimée par l'accélération w correspondante. On a

$$w = H \pi^2 R n^2$$

formule où n est le nombre de tours par seconde et R le rayon de rotation du point considéré.

Si nous faisons $R = 10^{cm}$ et $n = 50$, on en tire

$$w = 986970$$

Cette force est environ mille fois plus considérable que la pesanteur puisqu'on a seulement

$$g = 981$$

M. Meillière préconise l'emploi de la centrifugeuse pour les déterminations analytiques quantitatives,

(*tribune médicale* 28 avril 1899) (*Bulletin de la Soc. chim. de Paris* — 3^e série t. XXI p. 513) et montra par quelques exemples, quelle place importante devait prendre cet appareil dans les laboratoires d'analyses.

Nous ne saurions mieux faire que le citer :

« EMPLOI DE LA CENTRIFUGEUSE POUR
RECUEILLIR LES PRÉCIPITÉS DANS LES DOSAGES PAR PESÉE
PAR M. G. MEILLIÈRE

« Les centrifugeuses dont l'emploi se répand de plus en plus dans les laboratoires de physiologie peuvent rendre de grands services en chimie analytique.

« La réunion des précipités les plus ténus s'opère avec la plus grande facilité ; la liqueur surnageant peut être décantée ; deux ou trois lavages ultérieurs avec décantations à la centrifugeuse assurent la purification du précipité. La pesée se fait dans le tube même, après dessiccation à la température convenable.

« Ce mode opératoire trouve principalement son application dans le lavage des précipités qui ont une tendance à traverser les filtres quand la teneur saline des liqueurs vient à se modifier au cours des lavages.

« Les précipités de sulfate de baryte, de chlorure d'argent, d'oxalate de chaux, entre autres, peuvent être lavés rapidement sans chauffage préalable ou dépôt prolongé du liquide.

« Mais c'est surtout dans la séparation des préci-

pités gélatineux, que cette technique présente une grande supériorité sur les filtrations au papier.

« A titre d'exemple, voici quelques dosages pour lesquels la centrifugeuse nous a rendu de grands services :

« 1° Séparation du fer et du manganèse (analyse des Bauxites); le fer est dosé à l'état de phosphate en liqueur acétique ;

« 2° Précipitation de l'acide phosphorique à l'état de phosphomolydate, à froid par conséquent sans entraînement d'acide molybdique ; pesée ou détermination volumétrique ;

« 3° Détermination rigoureuse du plâtrage des vins ;

« 4° Dosages des sulfates par la méthode volumétrique : séparation rapide des précipités de sulfate et de chromate de baryte : réduction par le sulfate ferrosoammonique et titrage définitif au permanganate ;

« 5° Hydrologie : séparation de la chaux à l'état d'oxalate et évaluation volumétrique par le permanganate ;

6° Lavage et pesée des sulfures métalliques, des oxydes et phosphates de fer, de zinc, de manganèse, d'alumine, d'urane, des fluosilicates et autres précipités gélatineux ;

« 7° Dosage des sucres réducteurs par pesée du précipité d'oxydure ou de cuivre réduit (Meillère et Chapelle) ;

« 8° Réduction du chloroplatinate de potassé par l'aluminium et pesée du platine ;

« 9° Réduction des composés mercuriques par le chlorure d'étain et pesée de mercure ;

« 10° Analyses cliniques : urine, lait, liquides pathologiques :

« a) Séparation rapide de l'acide urique à l'état d'urate d'ammoniaque ou d'urate cuivreux ;

« b) Dosage des chlorures par le nitrate d'argent ;

« c) Séparation de l'albumine totale par l'acide trichloracétique ; séparation de la sérine seule dans le liquide privé de globuline par le sulfate d'ammoniaque ;

« d) Séparation rapide des sulfates dans les urines et dosage ultérieur du soufre sulfoconjugué ;

« e) Analyse du lait par le procédé Adam : précipitation de la caséine dans liquide pydroalcoolique par l'acide trichloracétique.

« En résumé la centrifugeuse présente sur la filtration au papier les avantages suivants :

« 1° Lavage avec le minimum de liquide ;

« 2° Atténuation de l'action de l'oxygène ;

« 3° Suppression de calcination du filtre et des opérations ultérieures qu'elle entraîne ;

« 4° Possibilité de séparer les précipités formés au sein de liqueurs filtrant mal ou attaquant les papiers.

« La méthode peut à la rigueur s'appliquer à l'isolement d'un précipité devant subir une calcination avant la pesée. Il faut alors laver par décantation, puis entraîner le précipité sur un filtre ou dans une capsule tarée au moyen d'un liquide facile à séparer par évaporation. »

TECHNIQUE DE NOTRE METHODE

Nous avons utilisé cet appareil pour le dosage pondéral des sucres et voici la technique très simple à laquelle nous nous sommes arrêté.

Le mélange fait à froid de 25^{cc} de liqueur de Fehling, de la solution sucrée et d'assez d'eau pour faire un volume total 37^{cc}, 5 est chauffé, pendant un temps suffisant, 6' (glucose, lévulose, galactose), 8' (maltose), 10 minutes (lactose).

Modus operandi. — Le mélange de liqueur de Fehling (25^{cc}), de la solution sucrée, et d'assez d'eau pour compléter le volume total à 37^{cc} 5 est chauffé au bain d'une solution salée pendant un temps suffisant 6 minutes (glucose, lévulose, galactose), 8 minutes (maltose), 10 minutes (lactose); l'ébullition dans le tube ayant duré respectivement 2, 4 et 6 minutes environ.

Les tubes sont retirés du bain et immergés dans de l'eau chaude pour être débarrassés de la couche saline qui se concrète à leur surface extérieure; puis ils sont centrifugés pendant 3 ou 4 minutes, décantés, repris par de l'eau distillée bouillante, centrifugés une deuxième fois et de nouveau décantés. Il n'y a plus qu'à les sécher et à les peser.

L'opération est donc d'une grande simplicité; elle nécessite seulement la centrifugeuse, une étuve et une balance. Ces deux derniers appareils faisant partie de

tout laboratoire, il n'y a de spécial que l'emploi de la centrifugeuse dont l'usage est déjà très répandu.

DÉTAIL DES DIFFÉRENTS TEMPS DE L'OPÉRATION

Nous sommes obligés d'opérer dans des conditions un peu spéciales qui ne nous permettent pas d'utiliser les diverses tables reproduites plus haut.

La première chose à faire sera de déterminer les relations existant entre le poids du sucre employé et le poids d'oxydule recueilli; cette série d'essais sera faite successivement pour chaque sucre.

Pour cela il nous faut préparer des sucres purs et c'est à cette intention que nous avons relaté quelques procédés offrant toute certitude à cet égard.

Nous ferons avec ces produits purs et secs des solutions à 1^{er} p. 100^{cc} et quelquefois à 1,5 p. 100 (lactose, maltose) de façon à pouvoir réduire totalement la liqueur de Fehling sans employer un volume de solution sucrée sensiblement supérieur à 12,5^{cc}.

Nous mettrons dans une série de tubes une quantité croissante de solution réductrice et en général un nombre entier de centimètres cubes que nous pouvons mesurer à moins de 0,2 p. $\%$ près avec une batterie de pipettes précises.

Nous compléterons le volume de 12^{cc},5 par de l'eau distillée mesurée avec une petite éprouvette graduée et nous y ajouterons en agitant 25^{cc} de liqueur de Fehling mesurée à la pipette.

Plusieurs tubes peuvent être ainsi préparés et chauffés simultanément. Nous opérons sur 4 à la fois, nombre de tubes que peut recevoir la centrifugeuse.

Pour les chauffer au bain de la solution saline, il est commode de faire usage d'un petit panier en fil de fer à plusieurs compartiments et dont la fabrication est fort simple.

La solution saline doit bouillir vers 110°; on y arrive en mettant environ 500^g par litre de chlorure de calcium cristallisé. Il a été remarqué que cette solution se concentre constamment par évaporation; mais elle peut servir dans des limites assez étendues par un réglage convenable du feu.

En effet, si la température d'ébullition du bain est constante pour une concentration donnée, les tubes s'y échaufferont pourtant d'autant plus vite que l'ébullition sera plus vive en raison de l'échange plus rapide des couches en contact. Après chaque opération ce volume sera ramené à sa valeur primitive.

Ce chauffage des tubes a besoin de quelque surveillance; il faut en effet que l'ébullition soit ininterrompue et d'autre part, que la solution ne déborde pas. Avec les tubes minces dont nous nous sommes servi, (pesant de 20 à 25^{gr} pour une contenance de 50 à 55^{cc}) l'opération est très facile. La liqueur de Fehling entre elle même en ébullition au bout de 3 à 4 minutes et au bout du temps indiqué plus haut, l'ébullition a eu une durée suffisante.

Il est avantageux que l'ébullition dans les tubes soit assez vive de façon à bien brasser les diverses

couches et à en activer la réduction ; mais alors elle demande quelque surveillance car, avons nous dit, la solution est exposée à déborder hors des tubes et faire rater l'opération. On évite ce dernier inconvénient en réglant le feu et en déplaçant au besoin les tubes pour les porter dans un compartiment voisin où l'ébullition du bain est moins tumultueuse.

Peut-être pourrait-on dire que l'ébullition n'a pas été identique dans tous les tubes. Cette objection n'a pas de valeur puisque la réduction est complète au bout de 2 minutes pour le glucose, 4 pour le maltose, etc. On peut s'en assurer en filtrant la solution au bout de ce temps et en la chauffant de nouveau ; au bout de plusieurs minutes, on n'obtiendra qu'un dépôt tout à fait insignifiant d'oxyde cuivreux.

DISCUSSION DE LA METHODE

La solution sucrée étant supposée bien dosée, ce qui d'ailleurs est indépendant de la méthode, nous en avons mesuré un volume donné avec des pipettes ne permettant pas une erreur de plus de 0,2 % ; ce volume a été complété à 1,25^{cc} par de l'eau puis nous avons ajouté exactement 25^{cc} de liqueur de Fehling.

La concentration constante du mélange n'entraîne donc aucune incertitude.

Pour la décantation, le précipité est tellement aggloméré qu'il ne s'en échappe pas une parcelle ; en le lavant une seule fois à l'eau distillée bouillante, on

enlève tout l'excès de cuivre ou plus généralement tout les matériaux solubles, mais rien que les matériaux solubles.

Si on fait un 2^e lavage à l'eau distillée bouillante, il est impossible d'y déceler le cuivre par la réaction très sensible du ferrocyanure de potassium.

Après un seul lavage, il reste dans notre tube tout l'oxyde cuivreux et à part un peu d'eau rien que l'oxyde cuivreux :

a Tout l'oxyde cuivreux ; car chaque fois nous avons décanté un liquide d'une limpidité irréprochable ne contenant rien en suspension, et nous avons vérifié que l'oxyde ne se redissout pas ;

b Rien que l'oxyde cuivreux :

Cette proposition est théoriquement inexacte, puisqu'il nous reste un peu de liquide qui est une dilution de la liqueur de Fehling non réduite ; mais c'est une dilution d'ordre homéopathique que nous allons étudier.

Le précipité d'oxyde cuivreux étant très adhérent, le tube peut être retourné complètement et mis à égoutter quelques secondes sur un linge ou sur du papier à filtrer.

Dans ces conditions, nous nous sommes assuré qu'il ne retenait que 0^g15 à 0^g17 d'eau ; la liqueur de Fehling étendue de 1/2 vol. d'eau contient environ 200^g de matériaux fixes par litre, soit 180^g par kilog. et pour 0^g16 elle en contient seulement 0^g0288.

Après un lavage avec 40^{cc} d'eau distillée bouillante

nous aurons une nouvelle solution dont 0,016 laisseront seulement

$$\frac{0.0288 \times 0.16}{40} = 0.0001152$$

de résidu fixe, soit un peu plus d'un dixième de milligramme; nous pourrons négliger cette quantité puisque nous ne pesons qu'à 1/2 milligramme.

Il nous reste encore la dessiccation de cet oxydule; Elle se fait presque instantanément à 150-170°. L'oxyde cuivreux y prend très rapidement une coloration violacée qu'il conserve à l'étuve mais qu'il perd progressivement par le refroidissement; les gouttelettes d'eau disparaissent rapidement et quand toute l'humidité imprégnant l'oxydule s'est dissipée, celui-ci prend un aspect plus terne très facile à reconnaître. A partir de ce moment, son poids est devenu constant et on peut le peser aussitôt après refroidissement; nous nous sommes assuré de ce fait en pesant plusieurs fois les mêmes tubes maintenus vingt quatre heures à l'étuve.

La température de cette dernière peut être comprise dans des limites assez étendue. En forçant le feu jusqu'à ce que cette température atteignît 200-205° nous avons obtenu en 24 heures une légère suroxydation reconnaissable déjà à un brunissement superficiel de l'oxyde cuivreux; la balance accusait une augmentation de 1^{mg} et de 1^{mg}5 sur un poids total de 150^{mg}.

Si on ne dispose que d'une étuve à 100° il sera préférable de faire un deuxième lavage à l'alcool fort: la dessiccation sera plus rapide.

L'oxydure Cu_2O est également stable à froid et à l'air libre ; nous n'avons pas constaté de différence de poids au bout de 24 heures.

Il nous reste à faire la vérification que nous sommes bien en présence d'oxydure Cu_2O , vérification facile par la transformation de ce dernier en cuivre métallique au moyen de l'hydrogène.

A cet effet, l'hydrogène fourni par un appareil de Kipp est amené jusqu'au fond du tube au moyen d'un bouchon tubulé. Pour chasser l'air contenu dans le tube, on le retourne l'ouverture en bas et l'hydrogène plus léger s'accumule à l'autre extrémité. Il est ensuite chauffé sur la flamme baissée d'un bec de Bunsen : en deux minutes environ la réduction est complète et le cuivre apparaît avec son éclat particulier. On maintient le courant d'hydrogène pendant le refroidissement : si on laissait rentrer l'air sur le cuivre encore chaud, très divisé et par conséquent très oxydable, on obtiendrait de l'oxyde noir CuO . Cependant, pour faire une série d'opérations semblables il est peu engageant d'attendre $\frac{1}{4}$ d'heure chaque fois. Nous évitons cette perte de temps en nous munissant de quelques bouchons de caoutchouc non percés ou de bons bouchons de liège bien souple : quand la réduction est terminée, le tube encore chaud est maintenu avec une pince l'ouverture en bas, puis on substitue rapidement un bouchon plein au bouchon tubulé. De cette façon on emprisonne une atmosphère réductrice dans laquelle le cuivre peut se refroidir sans altération.

Nous avons même, dans une série d'essais, remplacé l'hydrogène par le gaz d'éclairage qui fonctionne également bien; tout au plus faut-il peut-être chauffer un peu plus. Un flacon laveur est intercalé entre la conduite et le tube à réduction; il permet de contrôler l'écoulement du gaz.

Dans tous les cas, nous avons obtenu des résultats très concordants entre le poids de cuivre pesé et celui qu'on pouvait calculer en multipliant le poids d'oxydure par le facteur

si bien que dans la suite de nos recherches, nous avons complètement délaissé cette réduction devenue inutile.

Voici quelques résultats obtenus: dans la première série la réduction a été faite au moyen de l'hydrogène et dans la 2^e, au moyen du gaz d'éclairage.

Les résultats sont donnés en milligrammes.

I. — HYDROGÈNE

Cu ² O pesé	Cu calculé	Cu ² pesé
39	52.4	52.5
57	50.6	51
119	105.7	105.5
118	104.8	105
177.5	157.6	157.5
177	157.2	158
224.5	199.4	198.5
238.9	207.9	207

II. — GAZ D'ÉCLAIRAGE

Cu ² O pesé	Cu calculé	Cu pesé
59	52.4	52
64.5	57.3	56.5
123.5	111.4	110.5
118	104.8	104.5
181.5	161.2	161.5
175.5	155.8	155.5
231.5	205.6	205.5
232.5	206.5	206.5
243.5	216.2	216.5
239	212.2	213

Toutes ces manipulations (sauf la préparation de la solution sucrée bien dosée), sont tellement simples que l'opération la plus délicate devient la pesée des tubes.

En effet, on peut facilement introduire ici une erreur de quelques milligrammes soit comme nous l'avons vu, par les variations de la poussée de l'air, soit par la vapeur d'eau que peut convertir le verre en raison de son hygroscopicité.

On évite la première cause d'erreur en ramenant la pesée au vide et la 2^e, en laissant séjourner les tubes dans un exsiccateur.

Il y a une troisième source de perturbations propre à la méthode; sous l'action de la liqueur de Fehling chaude, le verre est attaqué et perd progressivement

de son poids : cette diminution de poids est d'environ 2 millig. pour un dosage de glucose et 3,5^{mg} pour un dosage de lactose.

Nous éviterons toutes ces causes d'erreur en même temps que toute correction de la manière la plus simple, c'est en faisant la tare des tubes immédiatement après l'opération. La perte de poids par attaque du verre n'entrera plus en ligne de compte et l'état météorologique de l'air étant le même, la poussée sera identique dans les deux cas. Il nous reste la différence de condensation de la vapeur d'eau, différence que nous allons réduire à néant en opérant comme il suit :

Les tubes retirés de l'étuve sont placés sur une paroi froide, plaque métallique, plaque de verre, etc., et pesés aussitôt qu'ils ont pris la température ambiante ; il ne faut pas plus de 10 minutes pour qu'on n'ait nullement à craindre les mouvements de convection de l'air échauffé. Il faut pour ces pesées ne toucher aux tubes qu'au moyen d'une pince ; le simple contact des doigts peut y faire condenser une quantité appréciable de vapeur d'eau.

Si on a à faire une série d'opérations successives en employant les mêmes tubes, on pourra même dans nombre de cas ne faire la tare de ces derniers qu'après 3 ou 4 opérations et partager l'écart entre chaque essai. On n'a guère à craindre une erreur de plus de 1^{mg} ou 2 au maximum et si on a 200^{mg} à peser l'écart, ne dépassera pas 1 %.

Disons un mot encore du nettoyage des tubes. L'oxyde cuivreux est facilement enlevé au moyen de

l'acide chlorhydrique; les tubes sont lavés à grande eau et essuyés extérieurement. Intérieurement ils sont rincés à l'eau distillée pour enlever toute trace de substance fixée, mis à égoutter quelques secondes sur du papier à filtrer puis portés à l'étuve. Au bout de 3 ou 4 minutes ils sont complètement secs et d'une limpidité parfaite. Nous avons jusqu'ici fait des essais principalement avec le glucose, le sucre inverti et le lactose.

APPLICATION DE LA METHODE

DES SUCRES ET DU GLUCOSE

Nous avons employé le glucose pur, obtenu suivant le procédé décrit plus haut (p. 171).

Ce sucre séché à 100° et refroidi dans un exsiccateur pouvait être considéré comme représentant sensiblement son poids de glucose réel. Il servit à faire une solution de 1^{re} pour 100^{es} dont nous avons employé 1, 2... 12^{cc}. soit 10, 20, 30... 120 milligr. de glucose, une solution à 1^o/100 servit à faire quelques essais sur de petites quantités de glucose.

Voici en milligr. quelques résultats obtenus :

Glucose ^{1^{re}}	Cu ² O
4	13.0
10	26
20	49.1
30	72
40	93.1
50	115
60	135.5
70	156
80	175.5
90	195
100	214
110	232
120	249.5

Quelle relation y a-t-il entre le poids de glucose et celui de l'oxyde cuivreux ?

Nous chercherons la forme de la fonction où selon l'usage nous appellerons x le poids de glucose en milligr et y le poids d'oxyde également en milligr, en employant la méthode des différences.

Pour un accroissement de x constant et égal à 10 milligr., l'accroissement de y est successivement 23.5, 22,5, 21.5, etc.

Ces différences premières n'étant pas constantes, la fonction n'est pas linéaire.

Pour étudier les différences secondes, il sera plus commode de dédoubler la série en prenant un terme sur 2; nous pourrions obtenir ainsi les deux groupes suivants :

x	y	Diff ₁	Diff ₂
	—	—	—
	26	+ 46	
	72	+ 43	— 3
	115	+ 41	— 2
	156	+ 39	— 2
	195	+ 37	— 2
	232		

β	y	Diff ₁	Diff ₂
	—	—	—
	49.5	+ 44	
	93.5	+ 42	— 2
	135.5	+ 40	— 2
	175.5	+ 38	— 2
	213.5	+ 36	— 2
	249.5		

Ces différences secondes étant sensiblement constantes et égales à — 2 nous pouvons en déduire :

a que la fonction est du 2^e degré

b que le coefficient de x^2 est négatif

c enfin nous pouvons calculer comme il suit ce dernier coefficient

Dans les groupes considérés, l'accroissement de la variable est de 20. Si cette variable avait l'unité pour coefficient les différences secondes seraient de ces différences secondes sont seulement de 2, il en résulte que le coefficient cherché est de

$$2 \times 20^2 = 800 ;$$

La forme de la fonction est donc de

$$y = - 0.0025 x^2 + Ax + B$$

A et B étant deux nouveaux coefficients faciles à éliminer entre deux termes quelconques de chacun des groupes: Nous obtiendrons de cette façon les deux équations suivantes :

$$(\alpha) \quad y' = - 0.0025x'^2 + 2.35x' + 3.75$$

$$(\beta) \quad y'' = - 0.0025x''^2 + 2.35x'' + 3.5$$

Ces deux séries donnent un écart de $0^{mg} 25$, écart bien explicable puisque nous ne faisons nos pesées qu'à 1/2 milligr. ; il faudrait corriger tous les termes d'une série de $\pm 0^{mg} 25$ pour qu'ils fussent représentés par l'autre équation.

Nous pourrions adopter l'une ou l'autre de ces formules ou encore leur moyenne

$$(\gamma) \quad y''' = - 0.0025x'''^2 + 2.35x''' + 3.625$$

Nous adopterons la formule (β) uniquement parce qu'elle est plus simple et que l'écart qui peut en résulter ne saurait dépasser $0^{mg} 25$.

Cette formule

$$y = - 0.0025x^2 + 2.35x + 3.5$$

va nous permettre de calculer les termes non obtenus expérimentalement. Nous pourrions dresser une table de concordance commode pour une série de dosages.

Mais si nous n'avons que quelques essais isolés, il sera plus simple de calculer le poids de glucose employé en fonction de x le poids d'oxyde recueilli.

En résolvant l'équation ci-dessus nous obtiendrons une double solution dont celle qui correspond à la question est

$$x = 10 (47 - \sqrt{2223 - 4y})$$

Avec cette formule très simple, on pourra, par exemple, calculer que pour obtenir 100, 200, 250^{mg} de Cu^2O il faudra employer respectivement 43,92, 81,20, 83 milligr. de glucose.

Un cas intéressant est celui où x disparaît, c'est-à-dire où il n'y a plus de glucose : on trouve encore $y = 3,5$, comme s'il y avait une légère réduction spontanée.

Dans toutes les tables que nous avons citées le fait est d'ordre inverse et le terme tout connu est négatif. Il n'y a rien d'étonnant à cela, les conditions étant très différentes.

En tous cas, le même phénomène se reproduisant pour l'établissement des tables et pour leur application aux dosages, les résultats restent comparables.

APPLICATION DU SUCRE INVERTI

Le sucre raffiné tel que le livre l'industrie et notamment celui de la pointe des pains est en général du

saccharose très pur qui ne contient pas plus de 0.05 % d'impuretés (cendres et matières organiques).

Il peut, par contre, contenir un peu d'eau dont il convient de le débarrasser par la dessiccation à l'étuve ; mais toute purification nous paraît bien inutile attendu que nous ne pourrions pas mettre en évidence un aussi petit écart.

Pour les essais relatés ci-dessous. Nous avons maintenu 24 h. à l'étuve de 100° du saccharose concassé en petits morceaux.

5^{gr} du produit desséché obtenu furent dissous dans 100^{cc} d'eau ; la solution additionnée de 10^{cc} d'acide chlorhydrique pur du commerce fut chauffée pendant 10 minutes à 68°, saturé exactement par la soude et complétée à 500^{cc}. Nous avons aussi une solution de sucre inverti correspondant à 1^{gr} saccharose pour 100^{cc}.

Cette solution nous servit à faire une série d'essais avec la liqueur de Fehling, essais calqués en tous points sur ceux pratiqués avec le glucose.

Nous avons obtenu les nombres suivants en millig.

Saccharose	Cu ² O
$x = \overline{2}$	$y = \overline{7.5}$
4	12.0
10	25.5
20	49.5
40	94.5
60	138.0
80	179.0
100	217.5
120	250.0 (1)

(1) Il y avait ici un léger excès de sucre reconnaissable à la coloration jaune du liquide décanté.

Inversion du Saccharose. — Le procédé employé et décrit ci-dessus permet d'obtenir un résultat très certain. Il convient pour préparer une solution titrée qui doit servir à une série de déterminations.

Cette manipulation est relativement longue : il faut opérer avec un volume déterminé, saturer l'excès d'acide, laisser refroidir vers 15° et compléter à un volume exactement mesuré.

On peut avoir à faire quelques essais seulement pour lesquels il serait intéressant d'aller plus vite.

Nous avons fait avec une solution à 1 % de saccharose non inverti au préalable quelques essais de la façon suivante :

La solution de saccharose (de 1 à 11^{cc}) est placée dans les tubes et additionnée de l'eau nécessaire pour faire 12^{cc}5. Dans chaque tube nous ajoutons au compte gouttes III gouttes d'acide chlorhydrique et nous portons les tubes au bain de chlorure de calcium pendant 5 minutes.

En raison de la petite quantité du liquide et de son point d'ébullition plus bas que celui de la liqueur de Fehling, il entre en ébullition en 2 ou 3 minutes, et la durée totale de cette ébullition a été d'au moins 2 minutes.

L'inversion est complète ; les tubes sont retirés et immergés pendant quelques instants dans l'eau froide, puis nous y ajoutons sans saturer l'acide 25^{cc} de liqueur de Fehling lorsque la température est redescendue vers 60°

Il ne serait en effet, pas rationnel d'ajouter la liqueur

de Fehling à une solution chaude de sucre réducteur. Les premières parties de cette liqueur après avoir été réduites par l'excès de sucre, agiraient encore sur ce dernier par leur alcali, ce qui troublerait les résultats.

L'opération a été continuée à la façon habituelle, les résultats ont été les mêmes que plus haut, la petite diminution de l'alcalinité de la liqueur n'ayant pas d'influence appréciable. D'ailleurs rien ne serait plus facile que de saturer très approximativement l'acide avec une solution alcaline connue ; ce n'est pas nécessaire et l'opération en est simplifiée d'autant.

Avec les nombres trouvés plus haut, et en procédant comme pour le glucose, nous obtiendrons la relation suivante :

Cette formule nous permettra de calculer d'autres termes. Les résultats pour le saccharose employé de 10 en 10 millig. sont les suivantes :

$x =$	10	$y =$	26.2
	20		49.5
	30		72.2
	40		94.5
	50		116.2
	60		137.5
	70		158.2
	80		178.5
	90		198.2
	100		217.5
	110		236.2
	117.5		250.0

Nous pouvons aussi, comme pour le glucose calculer

le sucre en fonction de l'oxyde cuivreux d'après la la formule suivante tirée de l'équation ci-dessus.

$$x = 10 (48 - \sqrt{2314 - 4y})$$

On peut utiliser ces résultats pour une solution titrée en sucre inverti; il n'y a qu'à ramener par le calcul ce titre à être exprimé en saccharose en le multipliant par le facteur 0.95.

Par exemple 10^{cc} de solution de sucre inverti à 1 %, soit 100^{mg} correspondant à 95^{mg} de saccharose et donnent en millig. d'oxyde cuivreux.

$$= 0.0025 \times (0.95)^2 + 2.4 \times 0.95 + 2.5 = 207.9^{\text{mg}}$$

Inversement, nous avons obtenu à l'analyse 200^{mg} de Cu²O, la formule ci-dessous nous donne en saccharose :

$$x = 10 (48 - \sqrt{1514}) = 90.9^{\text{mg}}$$

et en sucre inverti nous aurons :

$$\frac{90.9}{0.95} = 95.7^{\text{mg}}$$

D'ailleurs il nous est facile de transformer la formule pour qu'elle nous donne directement les résultats en sucre inverti, il suffit d'y remplacer x par $0.95x'$ (x' représentant le poids de sucre inverti).

Nous obtiendrons :

$$y = - 0.00223x'^2 + 2.28x' + 2.5$$

Avec cette formule nous pourrons obtenir le tableau

suivant qui s'applique exclusivement au sucre inverti.

$x' =$	10	$y =$	25.3
	20		47.2
	30		68.7
	40		90.1
	50		110.9
	60		131.2
	70		151.0
	80		170.6
	90		189.6
	100		208.2
	110		226.3
	120		243.9

Les nombres intermédiaires seront obtenus facilement et assez exactement par interpolation

APPLICATION DU LACTOSE

Le lactose se laisse également bien doser par cette méthode. Il faut seulement avoir la précaution de chauffer plus longtemps pour que la réduction soit complète. Nous le maintenons 10 minutes dans notre solution saline chaude, de façon que l'ébullition dure au moins 6 minutes. L'opération se termine comme pour le glucose.

Nous avons fait une série d'essais avec une solution à 1 % de ce sucre. Comme il est moins réducteur que le glucose il faut plus de 17^{cc} de la solution pour

avoir une précipitation totale de l'oxyde cuivreux. La dilution obtenue est donc un peu plus grande que de coutume, mais on sait que pour le lactose, cette dilution n'a pas d'influence notable.

Nous avons obtenu les nombres suivants en milligrammes :

lactose	Cu ² O
—	—
20	35
40	64
60	92
80	120
100	147
120	174.5
140	202.5
160	230
170	244

Nous avons cherché à mettre ces nombres sous une forme analogue à celles données plus haut :

En appelant x le poids de lactose.

— y le poids d'oxydule

on a

$$y = -0.00025x^2 + 1,435x^2 + 6,8$$

cette formule nous permettra de calculer les nombres suivants :

x	y	x	y
—	—	—	—
10	21.1	100	147.8
20	35.4	110	161.6
30	49.6	120	175.4
40	63.8	130	189.1
50	77.9	140	202.8
60	92.0	150	216.4
70	106.0	160	230.0
80	120.0	170	243.5
90	133.9	175	250.

On voit que pour 100 et 120^{mg} de lactose, le nombre donné par la formule est supérieur d'environ 1^{mg} à celui donné par l'expérience, comme si la courbe se rapprochait de la corde tirée entre $x = 80$ et $x = 140$.

Bien que nous ayons toujours observé ce petit écart nous croyons devoir l'attribuer aux erreurs d'expériences ; en tous cas il n'entraîne pas une différence de plus de 1/2 %.

Les nombres que nous trouvons pour le cuivre sont sensiblement inférieurs à ceux de Soxhlet ; la différence plus importante pour les fortes proportions de lactose atteint jusqu'à 2 %.

Nous ne saurions incriminer les résultats obtenus avec tant de soin par cet habile opérateur. Comme d'autre part nous avons employé des produits purs (sucre et réactif, nous croyons que la divergence des résultats doit être attribuée à la différence du mode opératoire.

Ce n'est ni à la différence de concentration des solutions en présence, ni la faible augmentation de la teneur en cuivre de notre liqueur de Fehling (12 %) qui peuvent causer cette perturbation.

Il reste l'alcalinité des liqueurs et le mode de chauffage.

La liqueur Pasteur que nous employons est en effet plus alcaline que la liqueur de Soxhlet. Le mode de chauffage est très différent ; avec notre bain le mélange ne peut-être chauffé au-dessus de 110°. En chauffant à feu nu, la température de la masse d'un liquide ne s'élève pas au dessus de son point d'ébullition, mais

les couches en contact avec la paroi du récipient peuvent être portées à une température notablement plus élevée et les réactions peuvent être modifiées. Dans le même ordre d'idées, notre collègue et ami M. Legrand a constaté que la cocaïne perd moins de ses propriétés anesthésiques par la stérilisation à l'autoclave que par l'ébullition à feu nu (1).

Pour les solutions de lactose qui ne commencent que vers l'ébullition à réduire activement la liqueur de Fehling, cette cause de perturbation peut sans doute prendre une valeur appréciable.

Dans tous ces dosages par pesée, les sucres précipitent un poids d'oxyde cuivreux d'autant plus considérable qu'il y a plus de liqueur de Fehling en excès.

On a pu remarquer que cette divergence est plus accentuée dans les tables que nous donnons que dans celles des auteurs que nous reproduisons.

Cette différence peut tenir soit à ce que le filtre d'asbeste laisse passer une petite quantité d'oxyde, perte d'autant plus sensible qu'elle porte sur une masse plus faible ; soit à ce que dans notre procédé, il faut chauffer le mélange un peu plus longtemps avant qu'il n'entre en ébullition. Nous n'avons pas cherché à vérifier la valeur de ces deux hypothèses.

Bien que nous ayons fait de nombreux essais avec d'autres sucres, notamment le lévulose et le galactose, nous n'avons jusqu'ici pas étudié leur pouvoir réducteur d'une façon méthodique.

(1) Nouveaux remèdes 1894,

Mais avec la liqueur de Fehling et pour ces deux sucres, la réduction suit une marche parallèle à celle par le glucose ; on pourra sans erreur sensible, calculer le sucre en glucose et augmenter le résultat dans les deux cas de 8 %.

APPLICATION
DES TABLES PRÉCÉDENTES AUX MÉLANGES DE SUCRE

Pour aborder le problème d'une façon générale, il nous faudra d'abord compléter nos tables pour les autres sucres.

De plus il y aura lieu de dresser des tables spéciales pour quelques cas usuels où on aura du saccharose ou du lactose en même temps que d'autre sucres. On sait en effet que le saccharose qui ne réduit pas directement, augmente pourtant l'action des sucres réducteurs. D'autre part, le lactose réduit lentement ; s'il se trouve en présence de glucose par exemple, ce dernier va d'abord épuiser son action réductrice et une proportion notable du lactose agira ensuite sur une liqueur de Fehling modifiée ; on ne saurait dire à *priori* quellesera la valeur de la perturbation qui en résultera.

De plus nous avons vu que le rapport entre l'oxyde de cuivre recueilli et le sucre détruit varie suivant les proportions relatives de liqueur de Fehling et de solution sucrée. La loi de ce phénomène est facile à saisir pour un sucre agissant isolément ; pour un mélange les coefficients trouvés ne sauraient être utilisés tels quels. Ainsi 50^{mg} de glucose donnent 114^{mg} d'oxyde et 50^{mg} de

lactose en donnent 78; mais si on fait agir simultanément ces deux quantités de sucres réducteurs, on n'obtiendra évidemment pas la somme soit 192^{mg} d'oxyde cuivreux.

Il est rationnel de penser que chaque sucre réduira suivant la quantité totale d'oxyde précipité.

Avec les formules que nous avons données il est facile de calculer le rapport

$$\frac{\text{Cu}^2\text{O}}{\text{Sucre}} = k$$

pour chaque sucre et pour des quantités croissantes d'oxyde.

Voici un petit tableau qu'il sera facile de compléter le cas échéant :

Cu^2O	k_1	k_2	k_3	k_4
50	2.47	2.35	2.47	1.65
100	2.53	2.24	2.35	1.52
150	2.24	2.16	2.27	1.48
200	2.16	2.09	2.20	1.45
250	2.08	2.02	2.13	1.43

k_1 est relatif au glucose

k_2 — sucre inverti

k_3 — — (calculé en saccharose)

k^* — lactose

Pour vérifier ce que cette hypothèse a de légitime nous avons préparé une solution contenant pour 100^{cc}, 18^r de glucose, 18^r de saccharose, 18 de lactose XX gouttes d'acide chlorhydrique.

Un essai avec 4^{cc} de cette solution, soit 40^{mg} de

chaque sucre, fait immédiatement et avant que l'action de l'acide ne se fût fait sentir a donné 151^{mg} d'oxyde.

Avec les coefficients du glucose et du lactose relatifs à cette quantité du cuivre on aurait trouvé

$$40 (2.24 + 1.48) = 148^{\text{mg}} 8$$

La petite augmentation de 2^{mg} peut être due à la présence du saccharose.

Un 2^e essai avec 4^{cc} de la même solution préalablement soumise à l'ébullition pendant 2 minutes a donné 229^{mg}.

Cette fois le saccharose a été inversé et nous aurons 40^{mg} de glucose, de lactose et de saccharose inversé ; avec les coefficients que l'on peut calculer pour 229^{mg} d'oxyde on aurait :

$$40 (2.12 + 1.44 + 2.16) = 228^{\text{mg}} 8$$

L'accord est tout à fait satisfaisant.

Dans le but de dédoubler le lactose, la solution fut maintenue 1 h. 1/2 à 110° en tube scellé et un nouvel essai fait avec 4^{cc} du produit obtenu a donné 243^{mg}.

Le même traitement fut appliqué à une solution de lactose et une de saccharose afin de déterminer la valeur de k pour ce cas spécial de ces deux sucres. L'expérience a donné 2.10 pour le saccharose et 1.97 pour le lactose ; on aurait donc dû avoir :

$$40 (2.09 + 2.10 + 1.97) = 246.4$$

Il y a une différence de 3^{mg} 4.

Le lévulose mis en liberté s'altère sous l'influence de l'acide chlorhydrique en dissolvant un peu de cuivre (acide lévulinique) et trouble un peu les résultats.

Il est bon d'employer assez de solution sucrée pour que la réduction de la liqueur de Fehling soit presque complète; on a ainsi l'avantage d'utiliser des coefficients pouvant seulement varier dans des limites étroites.

Un premier essai volumétrique à la liqueur de Fehling indiquera approximativement la quantité à employer.

Nous pourrions également utiliser la liqueur de Sachsse dont les indications serviraient à contrôler les résultats ci-dessus.

CHAPITRE VI

EMPLOI DES LIQUEURS ALCALINES A BASE DE MERCURE

Soxhlet dans son important travail, fait encore une très bonne étude des solutions mercurielles alcalines de Knapp et de Sachsse.

Ces liqueurs mercurielles qui furent assez employées il y a quelques années sont actuellement bien délaissées. Leur emploi est en effet moins facile et moins sûr que celui des liqueurs cupriques et elles ne présentent en échange aucun avantage sérieux.

Pourtant Soxhlet met en évidence une curieuse propriété de la liqueur de Sachsse, propriété déjà signalée d'ailleurs par son auteur (1) c'est de se laisser réduire bien plus énergiquement par le lévulose et le sucre inverti que par le glucose.

Néanmoins cette méthode n'est pas entrée dans la pratique courante, probablement en raison du peu de commodité de la solution.

En effet le mercure réduit à l'état métallique qu'il s'agirait de laver et de recueillir pour faire un dosage par pesée traverse facilement le filtre d'asbeste et Soxhlet qui a cependant pu faire de tels dosages avec la liqueur de Sachsse n'y a pas réussi avec la liqueur

(1) Farbstoff Kohlenhyd etc. Leipzig 1877.

de Knapp; d'autre part en recueillant le mercure sur un filtre de papier, on ne peut incinérer ce dernier en raison de la volatilité du mercure et de ses sels.

Il reste, il est vrai, la méthode volumétrique que recommandait Soxhlet, mais pour en obtenir des résultats exacts, il est nécessaire d'opérer en suivant toutes les indications de cet auteur, ce qui rend un dosage assez long.

Avec notre méthode de centrifugation, au contraire l'opération se réduit à une grande simplicité tout en donnant des résultats précis; de plus on peut exécuter simultanément plusieurs dosages.

LIQUEUR DE KNAPP

Knapp (1) prépare ainsi sa solution.

10 gr de cyanure de mercure pur et sec sont dissous dans l'eau; on y ajoute 100^{cc} de lessive de soude de densité 1.145 et on complète un litre.

Voici comment il l'emploie.

On porte à l'ébullition 40^{cc} de cette liqueur et on y laisse couler une solution à 1/2 % de sucre jusqu'à ce que tout le mercure soit réduit et précipité.

Pour reconnaître le terme de la réaction, on prélève de temps en temps une goutte de la solution que l'on porte sur une bande de papier à filtrer; puis avec un agitateur on apporte sur la tache une goutte de sul-

(1) *Annal Ch. and Ph.* 154, p. 252 (cité par Soxhlet)

flydarte d'ammoniaque qui y est maintenue une demi-minute.

Cette bande se colore en brun ; plus tard il se forme seulement un anneau brun clair qui ne peut-être reconnu sûrement que si on le regarde par transparence vers une fenêtre.

Enfin, lorsque l'opération est terminée, la bandelette de papier ne se colore plus du tout.

Knapp établit par une série de recherches que 100^{mg} de cyanure de Hg sont réduits par 40^{mg} de dextrose anhydre ; il faut donc 250^{mg} de dextrose pour 100^{cc} de la liqueur ci-dessus.

Quelques patriciens : Lensen, Pillitz, Worm Müller, P. Brumme ont essayé cette méthode en se servant de divers réactifs indicateurs pour la fin de la réaction : sulfhydrate d'ammoniaque hydrogène sulfuré ou oxyde stanneux ; ils en ont obtenu de bons résultats.

Pourtant le choix de l'indicateur est loin d'être indifférent et on obtient par l'emploi du sulfhydrate des résultats tout autres qu'avec l'oxyde stanneux, ce dernier réactif étant plus sensible.

D'autre part, P. Brumme remarqua que si on verse la solution sucrée en une seule fois, ou, au contraire, en plusieurs portions, les résultats ne sont plus comparables, l'écart pouvant être très important. Cette irrégularité est un sérieux obstacle à l'emploi de la méthode.

LIQUEUR DE SACHSSE

R. Sachsse recommande l'emploi d'un autre sel de ~~mercure~~ mercure qui ne doit pas mériter le même reproche.

Il dissout 18^{gr} d'iodure de mercure pur et sec au moyen de 25^{gr} d'iodure de potassium, ajoute à la solution 80^{gr} de potasse caustique et complète un litre.

Pour reconnaître le terme de la réaction, Sachsse employait une solution alcaline d'oxyde stanneux qu'il préparait en sursaturant par de la potasse une solution de chlorure stanneux du commerce. Lorsque la réduction du mercure s'avance, il prélève quelques gouttes du liquide qu'il essaie à l'oxyde stanneux ; il obtient ainsi, d'abord un précipité noir, puis un léger brunissement et enfin lorsqu'il n'y a plus de mercure, il n'y a pas de changement de couleur.

EXPÉRIENCES DE SOXHLET

TITRAGE DE LA LIQUEUR DE KNAPP

Soxhlet fit des expériences avec la liqueur de Knapp pour étudier l'influence des additions successives de solution sucrée et constata qu'elles augmentaient la quantité de sucre nécessaire. En ajoutant cette solution sucrée en 8 ou 10 portions successives et faisant bouillir chaque fois pendant deux minutes, l'augmentation atteignait facilement 12 0/0 de la quantité totale.

D'autre part, si on emploie comme indicateur l'oxyde stanneux qui est plus sensible que le sulhydrate il faudra employer plus de sucre pour faire disparaître la réaction du mercure, nouvelle cause d'erreur pouvant atteindre 5 à 6 o/o.

De ces essais, Soxhlet conclut très naturellement que pour avoir des résultats comparables entre eux, il n'y a qu'une façon de procéder; il faut verser d'un seul coup toute la liqueur sucrée et rechercher le mercure en solution après un temps d'ébullition suffisant, soit 2 3 minutes pour le glucose. Selon que l'on a pu ou non caractériser ce métal, on augmente ou on diminue la quantité de sucre pour un deuxième essai et ainsi de suite comme nous l'avons vu pour la liqueur de Fehling.

En opérant ainsi, et avec l'oxyde stanneux comme indicateur, il a trouvé que pour 100^{cc} de liqueur de Knapp, il fallait une quantité de glucose comprise entre 200 et 205^{mg}. La solution sucrée peut être à 1 ou 1/2 o/o, ce qui n'a pas d'influence avec cette liqueur; avec la solution à 1/2 o/o, le volume à mesurer est plus considérable, ce qui permet d'augmenter un peu la précision. On est loin des 250^{mg} indiqués par Knapp. La grande différence (45 à 50^{mg}) tient un peu au mode opératoire de Knapp et surtout à l'emploi par ce dernier d'un glucose impur obtenu par simple recristallisation dans l'alcool d'un glucose commercial.

TIRAGE DE LA LIQUEUR DE SACHSSE

Sachsse également se servait pour titrer sa liqueur, d'un glucose impur obtenu à partir du glucose prétendu pur du commerce; ce produit était lavé à l'alcool puis deux fois recristallisé dans l'alcool absolu.

Il trouva que 40^{cc} de sa liqueur étaient réduits par 150^{mg} de glucose. Soxhlet refit ces essais avec du glucose pur, et pour le même volume de 40^{cc} il ne lui en fallut que 134^{mg}. Le produit de Sachse avait donc un pouvoir réducteur trop faible d'environ 10 %.

Le même auteur répéta avec la liqueur de Sachsse les essais qu'il avait faits avec la liqueur de Knapp.

D'une part il mettait en une fois toute la solution sucrée faisait bouillir 2 ou 3 minutes et recherchait le mercure, puis recommençait l'opération jusqu'à l'obtention du volume exact.

D'autre part, il versait la solution sucrée par petites portions, faisait bouillir 1 ou 2 minutes après chaque affusion et continuait jusqu'à réduction complète.

L'influence des additions successives est encore plus considérable que pour la liqueur de Knapp, mais elle s'exerce en sens inverse, elle fait diminuer la quantité de sucre nécessaire.

Il trouva pour 100^{cc} de liqueur de Sachsse,

dans le 1^{er} cas 325^{mg} de glucose

— 2^e — 276 —

la solution étant à 1/2 %.

Le premier essai répété avec la solution à 1 % donna 330.5^{mg}.

Ainsi, pour la liqueur de Sachsse il n'est pas indifférent d'employer la solution sucrée à 1 ou 1/2 %.

Un essai par pesée du mercure réduit au moyen d'une quantité insuffisante de sucre inverti, lui montra que le pouvoir réducteur de ce dernier était augmenté par la présence d'un excès de métal.

Les deux liqueurs de Knapp et de Sachsse qui contiennent presque exactement la même quantité de mercure se laissent réduire très différemment. Soxhlet a montré que cela tient en partie à l'alcalinité des liqueurs.

APPLICATION AUX AUTRES SUCRES.

Ce dernier fit aussi des essais avec les autres sucres en procédant d'une manière uniforme et d'après la technique que nous avons vue pour le glucose; la solution sucrée à 1/2 au 1 % est versée en une seule fois, etc.

Ces essais sont résumés dans le tableau suivant ;

			100 ^{rs} de Knapp réduits par :	100 ^{rs} de Sachse réduits par :
Gluc. anhydre	en sol.	à 1/2 %	202.0	325.0
—	—	1 %	201.0	330.5
Sucre inverti	—	1/2 %	200.0	269.0
—	—	1 %	199.0	266.0

			100 ^{cc} de Knapp réduits par :	100 ^{cc} de Sachsse réduits par
Lévulose	en sol. à 1/2 ‰		198.0	213.0
—	— 1 ‰		197.0	222.5
Lactose	— 1/2 ‰		311.0	465.0
—	— 1 ‰		310.0	466.0
Galactose	— 1/2 ‰		245.0	438.0
—	— 1 ‰		242.0	442.0
Lactose hydrolyse	— 1/2 ‰		222.0	387.0
—	— 1 ‰		223.0	388.0
Maltose	— 1/2 ‰		308.0	491.0
—	— 1 ‰		315.0	506.0

On trouve par le calcul que 100^{cc} de solution à 1 ‰ de ces sucres réduisent :

	liq. de Knapp	liq. de Sachsse
Glucose	497 ^{cc} 5	302 ^{cc} 5
S. inversi	502 5	376 0
Lévulose	508 5	449 5
Lactose	322 5	214 5
Galactose	413 0	226 0
Lactose hyd.	448 8	258 0
Maltose	317 5	497 6

Les pouvoirs réducteurs de ces sucres en solution à 1 ‰ pour les trois liqueurs de Fehling, de Knapp et de Sachsse, sont dans le tableau ci-dessous, rapportés au glucose

	L. Fehling n. diluée	L. Knapp	L. Sachsse
Glucose	100	100	100
S. inverti	96.2	101.1 (100?)	124.5
Lévuiose	92.4	102.2 (100?)	148.6
Lactose	70.3	64.9	70.9
Galactose	93.2	83.0	74.8
Lactose hyd.	96.2	90.0	85.5
Maltose	61.0	63.8	65.0

Soxhlet est porté à attribuer aux erreurs d'expériences les différences relatives à la liqueur de Knapp qu'il observe avec le glucose, le s. inverti et le lévulose et croit que le pouvoir réducteur de ces trois sucres est le même.

On voit que ce pouvoir réducteur relatif est peu différent pour les deux liqueurs de Fehling et de Knapp. Cette dernière ne pourra pas nous rendre beaucoup de services.

Avec la liqueur de Sachsse au contraire, la lévulose possède un pouvoir réducteur bien plus élevé que les autres sucres, près d'une fois $1\frac{1}{2}$ celui du glucose et environ deux fois celui du galactose. Aussi dans le cas, où recherchant la lévulose, nous aurons trop peu de liquide pour faire un examen polarimétrique, ou bien une solution trop pauvre pour que ce dernier instrument nous donne des renseignements précis, l'emploi de la liqueur de Sachsse combiné avec celui de la liqueur de Fehling nous sera d'une grande utilité. Un dosage pondéral de mercure étant, au moyen de la centrifugeuse, aussi facile que le dosage du cuivre.

Cette application de la liqueur de Sachsse avait déjà

été indiquée par l'auteur lui-même puis par Soxhlet qui au moyen de sucres purs, a obtenu des coefficients exacts. Mais ce dernier employait la méthode volumétrique d'une exécution longue et pénible et de plus il lui fallait une assez grande quantité de liquide sucré.

Comme pour la liqueur de Fehling, nous aurons à déterminer au moyen de sucres purs les coefficients de réduction applicables aux conditions de nos opérations. C'est ce que nous avons déjà fait pour le sucre inverti et pour le glucose ; nous nous proposons de le faire pour les autres sucres.

Dans tous les cas nous suivrons une technique parallèle à celle que nous avons exposée pour la liqueur de Fehling.

DOSAGE PONDÉRAL DES SUCRES PAR LES SOLUTIONS DE MERCURE

Nous avons augmenté la teneur en mercure de la liqueur de Sachsse de façon à l'amener à 10g par litre.

Nous opérons sur 25^{cc}, nous aurons donc pour une réduction complète à recueillir et à peser 250^{mg} de mercure. Nous suivons la formule ci-dessous.

Biiodure de mercure pur et sec		22 ^{gr} 7
Iodure de potassium	—	40
Potasse caustique	—	100
Eau pour un litre	—	Q. S.

Cette solution qui se conserve bien, est au contraire très sensible à une foule d'agents. Il importe d'opérer avec soin pour en obtenir de bons résultats.

De même que pour la liqueur de Fehling, nous plaçons d'abord dans les tubes la solution sucrée additionnée d'assez d'eau pour faire 12^{cc}5; puis nous y ajoutons lentement et en agitant 25^{cc} de notre liqueur de Sachsse renforcée. Les tubes sont ensuite chauffés au bain de la solution saline exactement comme pour la liqueur de Fehling.

Même à froid on observe rapidement un louche sensible dans le mélange des solutions. Dès qu'on chauffe, le mélange se colore rapidement en gris uniforme; c'est du mercure métallique très divisé qui reste en suspension dans le liquide. Les tubes sont

maintenus 5 à 6 minutes au bain chaud, de façon que l'ébullition dure au moins deux minutes ; ils sont centrifugés, lavés et séchés comme on l'a vu pour l'oxyde de cuivre.

Nous ferons ici quelques remarques.

Le mercure réduit étant stable, on n'a guère à craindre sa redissolution ; il importe moins de se hâter que pour l'oxyde cuivreux et on peut affectuer simultanément la réduction dans une certaine quantité de tubes qui seront centrifugés successivement ; on peut gagner ainsi un temps appréciable.

Il n'est pas non plus nécessaire de faire bouillir l'eau distillée pour les lavages ; c'est cependant avantageux, d'abord parce que le dépôt de mercure est plus facile à dissocier pour un épuisement complet ; d'autre part les tubes étant encore chauds lorsqu'on les met à l'étuve, leur dessiccation en est singulièrement accélérée. Ce dernier point a son importance, le mercure s'y volatilisant très sensiblement.

Décantation. — Elle ne se fait pas toujours aussi bien que pour le cuivre, le mercure en raison de sa densité élevée ayant de la tendance à se détacher du fond des tubes ; il est avantageux de centrifuger deux ou trois minutes de plus. Si malgré cela on ne réussit pas à pouvoir retourner complètement un tube, il suffit de l'incliner doucement en appliquant son ouverture sur un linge un peu humide ; l'eau s'écoule rapidement et presque complètement. En général la décantation qui suit le lavage se fait mieux.

Dessiccation. — Cette partie de l'opération demande

à être surveillée, le mercure se volatilisant dans l'étuve et cela d'autant plus vite que la température y est plus élevée.

La perte de mercure de ce chef dépend de la forme et des dimensions des tubes beaucoup plus que de la quantité de métal qu'ils contiennent. Il y a en effet toujours assez de mercure pour saturer l'atmosphère intérieure de ces tubes et tout ou presque tout dépend des mouvements de cette atmosphère.

Des tubes contenant de 50 à 200^{mg} de mercure furent maintenus une heure à 100° et chacun d'eux perdit environ 2 milligrammes.

Mais à 170° les mêmes tubes perdirent en 1 h. de 25 à 30 millig. soit environ 1/2 millig. par minute.

Il semblerait donc indiqué de les sécher à 100° ; il faudrait alors un temps assez long qu'on pourrait abréger en effectuant le lavage avec de l'alcool.

Cette modification n'est pas avantageuse car il faudrait faire un premier lavage à l'eau. L'alcool en effet précipite une partie des sels oxygénés fournis aux dépens du sucre, et augmente apparemment le poids de mercure.

Nous avons fait à ce point de vue un certain nombre d'essais en supprimant le lavage à l'eau et en lavant immédiatement à l'alcool.

Les tubes furent pesés et lavés à l'eau ultérieurement; nous avons constaté ainsi que l'alcool précipitait environ 10^{mg} de substance étrangère.

On peut éviter toute complication si les tubes lavés à l'eau chaude ont été bien égouttés avant d'être mis à

l'étuve. Presque aussitôt le mercure primitivement gris terne prend l'éclat métallique et se rassemble en petites gouttelettes brillantes. La transformation est complète en 2 ou 3 minutes et les tubes sont aussitôt retirés.

D'après ce que nous avons vu plus haut, on pourrait croire qu'il y a au moins 1^{mg} de mercure volatilisé. En réalité il y en a beaucoup moins ; pendant que le tube s'échauffe, la volatilisation est beaucoup plus lente, puis l'eau disparaît rapidement si bien que le mercure ne reste qu'une fraction de minnte à cette haute température.

Les tubes sont pesés après leur refroidissement. Leur nettoyage est facile au moyen de quelques gouttes d'acide azotique. Comme pour le dosage par le cuivre, il est plus exact de tarer les tubes après l'opération en raison de l'action exercée sur le verre par la solution alcaline.

DISCUSSION DE L'OPÉRATION

Dans ce dosage, avons nous dit, il arrive qu'il n'est pas possible de retourner complètement le tube, le mercure glissant le long des parois en raison de son poids et de son peu d'adhérence.

Pourtant si on centrifuge un peu plus longtemps, cinq ou six minutes par exemple, ce contre-temps n'a pas lieu en général surtout pour la décantation qui suit le lavage ; il est exceptionnel qu'il se présente pour les deux temps de l'opération.

Supposons cependant ce cas désavantageux où, pour les deux décantations il a fallu aller lentement en inclinant les tubes avec précaution et voyons quelle cause d'erreur nous pourrions introduire.

Nous nous sommes assuré, en absorbant le liquide à l'extrémité du tube par un linge ou du papier à filtrer, qu'il ne restait dans tous les cas pas plus de 0g40 de solution. Or, notre liqueur de Sachsse diluée avec un demi-volume d'eau contient environ 100g^r de matières fixes par kilogramme, soit 0g04 pour 0g40. Nous reprenons par 40^{cc} d'eau distillée et nous laissons finalement 0g40 de cette dilution à 1 %; le résidu fixe sera de 0g0004.

Ainsi en supposant toutes les mauvaises chances réunies, les exagérant même nous n'obtenons qu'une erreur inférieure à un demi-milligramme.

D'autre part, nous sommes exposés à perdre un peu de mercure par volatilisation. Là encore l'erreur est faible insignifiante même, si on surveille l'opération et si on enlève les tubes aussitôt que le culot de mercure apparaît brillant dans toute son étendue; la perte ne dépasse pas un demi-milligramme comme nous nous en sommes assuré en répétant plusieurs fois le traitement sur le même mercure.

Nous avons donc deux causes d'erreur de sens contraire qui peuvent parfaitement ne pas se compenser mais dont la valeur absolue de chacune est négligeable et à plus forte raison leur différence.

Sur quelle précision pouvons-nous compter ?

Elle est un peu moins grande que pour le cuivre ;

sur une quantité de 200 à 250 millig. de mercure, on peut observer dans plusieurs essais parallèles des petites différences de 1 à 2 millig.; avec le cuivre il est rare que cet écart dépasse 1/2 millig.

Les petites variations observées pour le mercure ne sont attribuables ni à la décantation, ni à la volatilisation de ce métal. Elles peuvent être causées par de petites différences dans les traitements successifs, car la liqueur de Sachsse y est très sensible.

Aussi, il importe d'opérer sur un volume total bien déterminé, de mélanger avec soin la solution sucrée et la liqueur de Sachsse, puis de chauffer très régulièrement; le reste de l'opération est facile.

Dans ces conditions les erreurs ne dépassent pas 1 % du poids total.

APPLICATION AU SUCRE INVERTI

Nous avons d'abord appliqué la méthode au sucre inverti; nous avons employé la solution préparée plus haut pour des essais à la liqueur de Fehling et nous avons obtenu les résultats suivants exprimés en saccharose :

Saccharose en millg.	Mercure en millg.
10	41
20	76
30	109.5
40	140.5
50	170
60	198
70	224.5
80	250

Ces nombres peuvent être représentés très approximativement par la formule

$$y = -0,0085 x^2 + 3,75 x + 4,3$$

où x est la quantité de saccharose en millig. et y la quantité de mercure également en millig.

Cette formule ne doit pourtant pas s'appliquer à une quantité de saccharose inférieure à 10^{mg}; nous avons obtenu expérimentalement pour 1, 2, 5^{mg} de ce sucre respectivement 4, 9,5, 21.5^{mg} de mercure alors que la formule donne 8, 11.8, 23.7^{mg}.

On pourrait dresser une table expérimentale s'adressant à ces petites quantités, mais les nombres que l'on obtient ne nous paraissent pas très certains et d'autre part, leur utilité serait très restreinte.

Les résultats ci-dessus sont exprimés en saccharose ce qui est logique lorsqu'on étudie la destruction de ce sucre.

Mais pour avoir des résultats comparatifs avec les divers sucres réducteurs, il peut être commode d'exprimer ces quantités en sucre inverti.

Rien n'est plus facile, il suffit de transformer l'équation ci-dessus d'une façon convenable. Pour cela on peut comme nous l'avons dit à propos du cuivre y remplacer x par $0,95 x'$ et dans la nouvelle équation x' représentera le poids de sucre inverti. On obtient ainsi :

$$y = -0,0077 x'^2 + 3,56 x' + 4,3$$

Avec cette formule nous pourrons calculer la table suivante applicable au sucre inverti

x	y
10	39.1
20	72.4
30	104.2
40	134.4
50	163.1
60	190.2
70	215.8
80	239.8

Nous avons vu que la réduction est complète avec 80^{mg} de saccharose ; cette quantité correspond à

$$\frac{80}{0.95} = 84,21$$

de sucre inverti qui doivent nous donner le même résultat avec la dernière formule. Le calcul donne $r = 249.5$.

APPLICATION AU GLUCOSE

Le dosage pondéral du glucose se fait également bien par ce procédé.

Nous avons opéré de la même façon en employant une quantité croissante d'une solution de ce sucre. Le volume total était ainsi complété à 37^{cc} 5 et après 5-6 minutes de chauffage, dont au moins 2 minutes d'ébullition, les tubes étaient centrifugés, décants, etc., comme ci-dessus.

De même que pour le sucre inverti, on obtient des résultats d'autant plus concordants que l'on suit une technique plus rigoureusement déterminée. Il faut que l'ébullition soit régulière et continue pendant 2 minutes;

si on fait bouillir plus longtemps on augmente un peu la quantité du mercure précipité.

Un accident opératoire nous a contraint d'employer un glucose dont la pureté n'était pas absolue. Nous avons déterminé sa teneur en glucose réel au moyen de la liqueur de Fehling et corrigé les résultats en conséquence.

Nous avons obtenu les nombres suivant en milligrammes :

Glucose	Mercure
2	9
5	19.5
10	36.5
20	62.5
40	113
60	158
80	199
100	239
110	250 (1)

Cette série peut être représentée par la formule suivante où x représente le glucose et y le mercure.

$$y = - 0.005 x^2 + 2.8 x + 8$$

L'écart ne dépasse pas 1 millig. pour les valeurs de x supérieurs à 10. Au-dessous de cette quantité de glucose, la formule donne des résultats un peu trop forts.

Elle permet de trouver facilement les nombres intermédiaires.

(1) Il y avait un excès de sucre manifeste.

L'équation résolue par rapport à x donne la formule très simple

$$x = 10 (28 - \sqrt{800 - 4y})$$

qui permet de calculer immédiatement le glucose en fonction du mercure recueilli.

Les nombres suivants ont été obtenus par le calcul au moyen de la formule donnée plus haut :

Glucose	Mercure
x	y
10	37.5
20	62
30	87.5
40	112
50	135.5
60	158
70	179.5
80	200
90	219.5
100	228
106.8	250

En résumé, les deux liqueurs de Fehling et de Sachsse peuvent l'une et l'autre être utilisées pour le dosage pondéral des sucres ; dans les deux cas l'opération est également simple.

La liqueur de Fehling a l'avantage de donner des résultats plus précis et sera plus généralement appliquée ; par son usage, l'erreur possible ne dépasse habituellement pas 0.2 à 0.5 %, suivant la quantité d'oxyde de cuivre recueilli.

Avec la liqueur de Sachsse, il faut bien peu de chose pour obtenir un écart de 1 0/0. Son emploi sera limité au cas où ses propriétés spéciales pourront servir à déterminer soit le galactose, soit surtout le lévulose.

Pour que les essais comparatifs avec les deux liqueurs donnent les renseignements précis qu'on peut en attendre, il y a lieu d'opérer sur une liqueur se rapprochant le plus possible d'une solution de sucre : les liquides organiques seront soigneusement défécqués, même si l'on doit perdre un peu de sucre (on pourra le plus souvent le régénérer).

La défécation au sous-acétate de plomb ne suffit pas toujours ; cet agent laisse, dans l'urine notamment, la créatinine qui précipite abondamment et à froid par la liqueur de Sachsse.

Nous nous proposons d'étudier ultérieurement les précautions qu'il y a lieu d'appliquer dans chaque cas particulier.

CONCLUSIONS

Pour les besoins de la clinique on peut avoir à rechercher dans les divers milieux de l'organisme la présence simultanée de diverses sortes de sucres dont un seul le glucose peut s'y rencontrer en quantité notable. Le lactose fait pourtant exception pour le cas particulier du lait.

La détermination qualitative et à *fortiori* quantitative de ces composés est délicate.

L'appréciation exacte du pouvoir réducteur total, soit directement, soit après divers traitements, hydrolyse, fermentation partielle, serait de la plus grande utilité; mais pour cela, les méthodes usuelles sont tout à fait insuffisantes.

Les méthodes exactes : méthode volumétrique de Soxhlet, diverses méthodes pondérales, au contraire, offrent toute garantie d'exactitude. Malheureusement elles sont peu expéditives et ne peuvent guère rendre de service à l'expérimentation clinique qui demande un grand nombre de déterminations.

La méthode pondérale basée sur l'emploi de la centrifugeuse et telle que nous l'avons exposée est à la fois expéditive, très simple et très précise.

La même méthode s'applique avec la plus grande facilité au dosage pondéral par le mercure et rend pra-

tique les propriétés spéciales aux solutions alcalines de ce métal.

Dans l'application de cette méthode, on est amené à mesurer de très petits volumes de liquides; on le fait aisément et exactement au moyen des pipettes que nous préconisons.

Les tables que nous donnons ont été établies avec soin, et si on suit exactement notre technique, on n'observera que des écarts insignifiants.

Il nous reste à compléter ces tables pour chaque sucre et pour chacune de ces deux liqueurs; à étudier l'action combinée de ces divers sucres exerçant simultanément leur pouvoir réducteur, et enfin, dans l'application aux recherches biologiques, à étudier la réaction des divers milieux sur nos réactifs. Pour ces diverses recherches, nous avons déjà un certain nombre de faits qui n'ont pu trouver place dans ce travail et qui feront l'objet d'un second mémoire.

Nous nous proposons également d'appliquer la méthode à d'autres solutions alcalines (bismuth, argent, etc.) qui ont été peu étudiées à ce point de vue.

VU :

Le Président de Thèse,
POUCHET.

VU :

Le Doyen,
BROUARDEL.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
GRÉARD.

